

Université Montpellier II
Sciences et Techniques du Languedoc
Académie de Montpellier

Dossier présenté par

Didier THARREAU

en vue d'obtenir le diplôme
d'Habilitation à Diriger des Recherches

« Génétique des interactions et génétique des populations dans l'interaction entre le riz et le champignon phytopathogène *Magnaporthe oryzae*. »

Soutenu le 12 décembre 2008

JURY

Michel Dron
Claire Neema
Jean Loup Nottéghem
Michel Pitrat
Bruno Touraine

Professeur Université Paris XI
Professeur Agro Paris Tech
Professeur SupAgro Montpellier
Directeur de Recherche INRA, Avignon
Professeur Université Montpellier II

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Rapporteur
Président

Sommaire

1. Préambule	3
2. Activités de recherche de 1990 à 2008	4
<u>2.1 Introduction</u>	
<u>2.2 Caractérisation génétique et moléculaire des interactions entre le riz et <i>M. oryzae</i></u>	5
2.2.1 <i>Quelle est la fonction des gènes d'avirulence fongiques ?</i>	
<i>Identification, cartographie et clonage de gènes d'avirulence de <i>M. oryzae</i>.</i>	5
2.2.2 <i>Comment les produits des gènes de résistance et d'avirulence interagissent-ils ? Identification, cartographie et clonage du gène de résistance <i>Pi33</i>, correspondant à <i>ACE1</i>.</i>	7
<u>2.3 Vers une caractérisation de l'évolution des populations de <i>M. oryzae</i></u>	10
2.3.1 <i>Quelles sont la structure et la diversité des populations de <i>M. oryzae</i> ?</i>	10
2.3.2 <i>Comment apparaissent et se répandent les nouvelles virulences</i>	
<i>Le cas d'<i>ACE1</i>.</i>	12
<u>2.4 Conclusion et perspectives</u>	13
3. Programme de recherche à 5 ans	14
<u>3.1 L'interaction <i>Pi33/ACE1</i></u>	15
3.1.1 <i>Coût des virulences</i>	15
3.1.2 <i>Caractérisation moléculaire des interactions : Cloner <i>Pi33</i></i>	16
<u>3.2 Génétique et évolution des populations de <i>M. oryzae</i></u>	16
3.2.1 <i>Migrations</i>	16
3.2.2 <i>Reproduction sexuée</i>	17
3.2.3 <i>Changement d'hôte</i>	18
3.2.4 <i>Adaptation locale</i>	19
3.2.5 <i>Evolution de l'agressivité</i>	20
<u>3.3 Conclusions</u>	21
Références bibliographiques	21
4. Encadrement et formation	26
5. Synthèse des publications	28
Annexe 1 : liste des publications	29
Annexe 2 : CV	34

1. Préambule

Dans un grand nombre de pathosystèmes, des interactions spécifiques existent entre des souches de l'agent pathogène et des variétés de l'hôte. Ces interactions spécifiques suivent assez souvent le modèle « gène-pour-gène » de Flor qui postule qu'à un gène dit d'avirulence correspond un gène de résistance chez l'hôte. Ce type d'interaction permet de faire l'hypothèse qu'il y a reconnaissance de l'agent pathogène par l'hôte. Lorsque j'ai démarré mes recherches, les fonctions des gènes d'avirulence et de résistance n'étaient pas connues. *Magnaporthe oryzae* était un des rares champignons phytopathogènes pour lequel la cartographie et le clonage de gènes d'avirulence étaient possibles. Nous avons donc voulu savoir à quoi correspondaient ces gènes d'avirulence en les clonant. Le clonage d'un gène d'avirulence nous a amené à nous intéresser à l'autre partenaire de l'interaction, le gène de résistance, pour caractériser l'interaction au niveau moléculaire. Par ailleurs, le développement des outils moléculaires et, en particulier, de la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction), ont permis d'aborder les interactions spécifiques sous l'angle populationnel. En effet, les résistances de la plante exercent une pression de sélection sur les agents pathogènes qui évoluent pour contourner ces résistances. Dans un système gène-pour-gène, le contournement semble d'autant plus facile qu'une mutation ponctuelle d'un gène d'avirulence peut parfois suffire pour surmonter la résistance. Notre objectif est donc de comprendre comment les populations de l'agent pathogène évoluent face à la pression de sélection exercée par la résistance de l'hôte.

Le présent dossier résume mes principales activités de recherche sur la pyriculariose, pendant mon DEA (1990), ma thèse (1990-1994) et depuis mon recrutement au CIRAD (depuis 1996). Il présente les projets scientifiques qui ont été conduits, ainsi que les activités d'encadrement et de formation. La deuxième partie présente mon projet de recherche à cinq ans. La liste de mes publications et mon CV sont présentés en annexe.

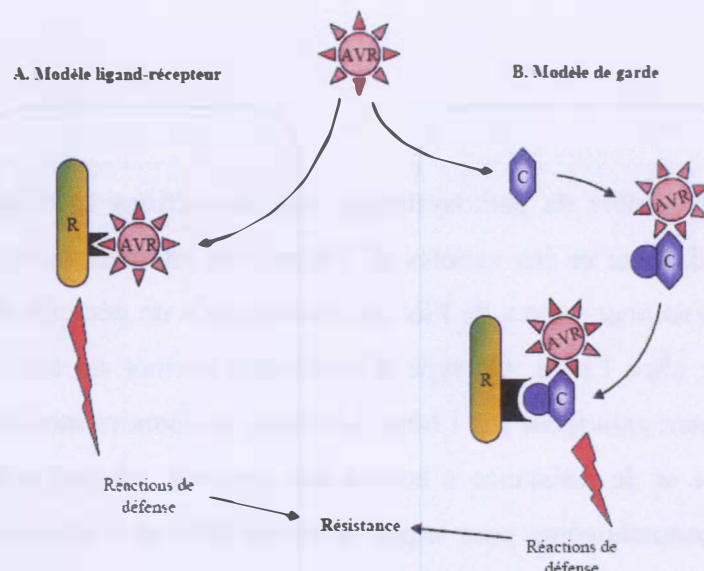


Figure 1. Modèles biochimiques de la relation gène-pour-gène.

A. La protéine de résistance R est un récepteur sur lequel se fixe la protéine d'avirulence AVR. L'interaction déclenche une cascade de signalisation aboutissant à l'activation des réactions de défense.

B. La protéine AVR se fixe sur une protéine cible C, interaction qui peut induire à un changement de conformation et la reconnaissance consécutive par le récepteur R. Cette interaction *via* la protéine C conduit à l'activation des réactions de défense.

D'après E. Ballini.

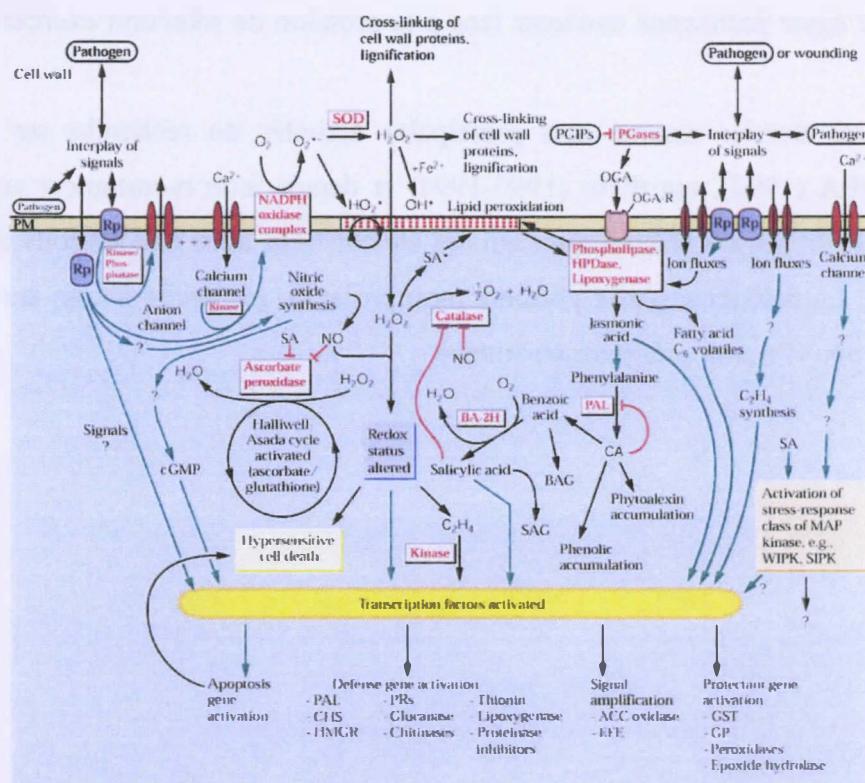


Figure 2. Cascades de signalisation de défense des plantes aux agents pathogènes. *Holfius et al. 2007 Seminars in Cancer Biology. © 2006 Elsevier Ltd.*

2. Activités de recherche de 1990 à 2008

2.1 Introduction

Les maladies des cultures céréalières provoquent des pertes considérables et induisent une utilisation massive de fongicides. A côté de la lutte chimique, la résistance naturelle des céréales reste mal exploitée, en partie par manque de connaissance sur les bases génétiques de la résistance des plantes aux agents pathogènes.

Dans le modèle d'interaction de Flor, dit gène-pour-gène et validé dans de nombreux pathosystèmes (De Witt 1992), l'issue de l'interaction est déterminée par la présence dans la plante de gènes de résistance et dans l'agent pathogène de gènes d'avirulence. Le produit du gène d'avirulence est reconnu directement ou indirectement par le produit du gène de résistance, ce qui déclenche l'activation de gènes de défense (Figure 1 ; Dangl et Jones 2006). Cette cascade de signalisation aboutit le plus souvent à la mort précoce des cellules infectées de l'hôte décrit sous le nom de « Hypersensitive Response » (HR ; Figure 2 ; Hofius *et al.* 2007).

De nombreux gènes de résistance spécifiques ont été décrits mais ils sont généralement contournés suite à l'adaptation des populations d'agents pathogènes. Ces phénomènes de contournement des résistances demeurent mal compris autant au niveau moléculaire qu'au niveau des populations.

Nous avons démontré que l'interaction entre le riz et le champignon *Magnaporthe oryzae* répond à la théorie gène-pour-gène (Silué *et al.* 1992a). C'est une interaction modèle pour les maladies fongiques aériennes des céréales depuis une vingtaine d'années (Valent 1990 ; Veneault-Fourrey et Talbot 2005). Les progrès récents en génomique du riz (*Oryza sativa*) et de *M. oryzae* ont conforté cette position. Pour ces deux organismes de nombreux outils de génomique, y compris la séquence de leur génome, sont disponibles (Goff *et al.* 2002 ; Dean *et al.* 2005). En outre, la pyriculariose du riz, qui résulte du parasitisme par *M. oryzae*, est une maladie importante agronomiquement (Figure 3). Elle nécessite l'utilisation de cultivars résistants et de fongicides. Le marché des fongicides anti-pyriculariose représente un des grands marchés mondiaux de pesticides.

Un des objectifs de l'équipe Interactions riz parasites de l'UMR BGPI (Biologie et génétiques des interactions plantes-pathogènes) est de mieux comprendre les phénomènes de contournement des résistances spécifiques. Les études que j'ai réalisées portent sur la caractérisation génétique et moléculaire des interactions entre *M. oryzae* et le riz et sur l'évolution des populations de l'agent pathogène. Ces travaux sont appliqués à la sélection pour une résistance durable.



Figure 3. Symptômes et dégâts provoqués par *Magnaporthe oryzae* sur la culture de riz. Symptômes sur panicules, dégâts au champ en Camargue et lésion sporulante. Photos : D. Tharreau, CIRAD

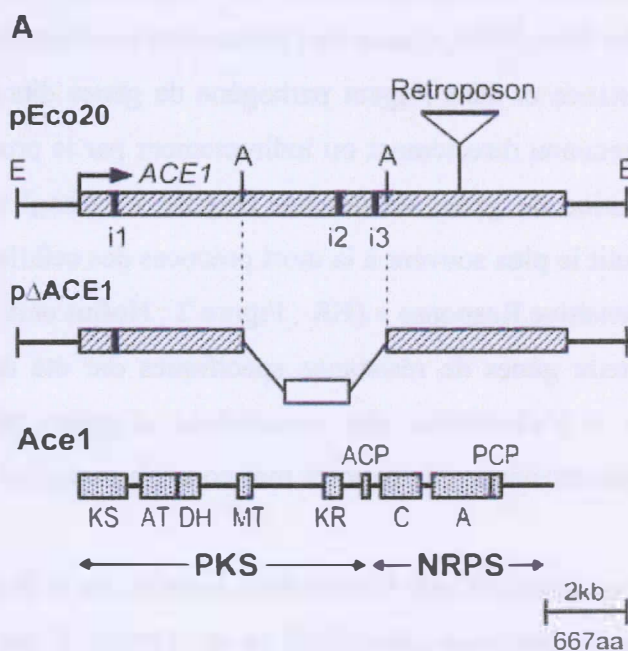


Figure 4. Clonage d'*ACE1*

(A) Physical map of the complementing plasmid pEco20, insertion site of retroposon in 2/O/3 *ace1* virulent allele, the gene replacement vector pDACE1, and Ace1 protein encoded by ACE1. The ACE1 ORF is represented as a hatched box, the three introns (i1 to i3) as black bars, and restriction sites as E for EcoRI and A for AgeI. In the *ace1* allele from virulent parent 2/O/3, a 2-kb sequence is inserted at 2.6 kb before the ACE1 stop codon indicated by a retroposon sign on the pEco20 physical map. In the gene replacement vector pDACE1, the *hph* resistance gene (open box) replaces an internal 3.6-kb AgeI fragment. In the ACE1 translation product (Ace1), stippled boxes represent enzymatic domains (drawn to scale): KS, b-ketoacyl synthase; AT, acyltransferase; DH, dehydratase; MT, methyl-transferase; KR, b-ketoreductase; ACP, acyl carrier protein; C, condensation domain; A, AMP binding domain; PCP, peptidyl carrier protein. PKS designates the polyketide synthase part of Ace1 and NRPS the nonribosomal peptide synthetase module of Ace1. aa, amino acids.

(B) Infection assays on resistant rice cultivar C101lac. Seedlings were spray inoculated with avirulent parent Guy11, virulent parent 2/O/3, 2/O/3 transformant HBE20 carrying pEco20, and Guy11 *ace1* deletion mutant HB26. Typical symptoms on rice leaves were obtained 7 d after inoculation. Guy11 is unable to infect the Pi33-carrying rice cultivar C101lac. Isolate 2/O/3 is virulent on C101lac and induces typical susceptible lesions. The 2/O/3 transformant HBE20 is avirulent on C101lac as a result of the introduction of ACE1 carried by pEco20. HB26 is virulent on C101lac as a result of the partial deletion of ACE1 by gene replacement using the pDACE1 construct.

2.2 Caractérisation génétique et moléculaire des interactions entre le riz et *M. oryzae*

La lutte contre la pyriculariose est basée sur différentes méthodes parmi lesquelles l'utilisation de variétés résistantes est la plus importante. Des variétés résistantes sont donc créées par les sélectionneurs. Mais les populations du champignon pathogène peuvent évoluer et des individus capables d'attaquer ces variétés (ces individus sont dits virulents) peuvent être sélectionnés. Ces individus vont alors se multiplier et la résistance ne sera plus efficace. Ce phénomène est connu sous le nom de faillite de résistance ou contournement de résistance. L'équipe s'attache à comprendre le déterminisme génétique et moléculaire des interactions riz-*M. oryzae*. Les phases précoces de l'interaction sont essentielles au déclenchement des mécanismes de défense de la plante. Des mécanismes de reconnaissance de l'agent pathogène sont mis en place par la plante. Aujourd'hui, une vingtaine de gènes d'avirulence fongiques et une cinquantaine de gènes de résistance de plantes ont été clonés (Gout *et al.* 2007 ; Martin *et al.* 2003 ; Bent et Mackey 2007). Lorsque ce travail a été initié aucun de ces gènes n'était cloné et la phase d'interaction entre les champignons phytopathogènes et leurs hôtes était peu connue. L'objectif de nos travaux était donc d'identifier, de cloner et d'étudier l'expression et la diversité des gènes impliqués dans la reconnaissance, aussi bien chez la plante que chez l'agent pathogène.

*2.2.1 Quelle est la fonction des gènes d'avirulence fongiques ? Identification, cartographie et clonage de gènes d'avirulence de *M. oryzae*.*

La maîtrise de la reproduction sexuée de *M. oryzae* au laboratoire a permis d'identifier trois gènes d'avirulence dans un croisement entre deux souches, Guy11 et 2/0/3 (Silué *et al.* 1992b¹). Ces gènes ont été cartographiés à l'aide de marqueurs moléculaires et un clonage par marche chromosomique a été entrepris (Dioh *et al.* 1997, Dioh *et al.* 2000). En utilisant cette stratégie, l'équipe de M-H. Lebrun (CNRS-BAYER Crop Science, Lyon), en collaboration avec notre équipe, a pu cloner le gène d'avirulence *ACE1* (précédemment *AVR-IRAT7-1*) qui interagit avec un gène de résistance du cultivar IRAT7. Le clonage du gène a été démontré par complémentation d'une souche virulente puis par délétion dans une souche avirulente (Böhnert *et al.* 2004 ; Figure 4). Le gène, contenu dans un fragment d'ADN de 20 kb, a été séquencé et fait depuis l'objet d'études fonctionnelles approfondies par l'équipe de M-H Lebrun (expression, régulation). *ACE1* est un gène de grande taille, contrairement aux autres gènes d'avirulence clonés jusqu'ici (Fudal *et al.* 2007). Il s'agit d'un gène codant pour une polycétide synthase fusionnée à une peptide syntétase non ribosomale (PKS-NRPS). Ce type d'enzyme est impliqué dans la biosynthèse de métabolites secondaires, fonction qui n'avait pas été décrite pour un gène d'avirulence. Ce gène appartient à un cluster de gènes qui participeraient à la synthèse du métabolite (Collemare 2007, Collemare *et al.*

¹ Les articles dont je suis co-auteur sont en gras.

Tableau 1. Gènes d'avirulence clonés chez *Magnaporthe oryzae*.

Gènes	Propriétés et fonction présumée	Taille protéine	Référence
<i>PWL1</i>	Protéine sécrétée ? Eliciteur ?	147 aa	Kang et al. 1995
<i>PWL2</i>	Protéine sécrétée ? Eliciteur ?	145 aa	Sweigard et al. 1995
<i>Avr1CO39</i>	Protéine sécrétée ? Eliciteur ?	30 aa	Farman et Leong 1998
<i>Avr-Pita</i>	Protéine sécrétée, Protéase à Zinc	223 aa	Orbach et al. 2000
<i>ACE1</i>	Polycétide synthase-Peptide synthétase non ribosomique Synthèse d'un métabolite 2aire	4035 aa	Böhnert et al. 2004

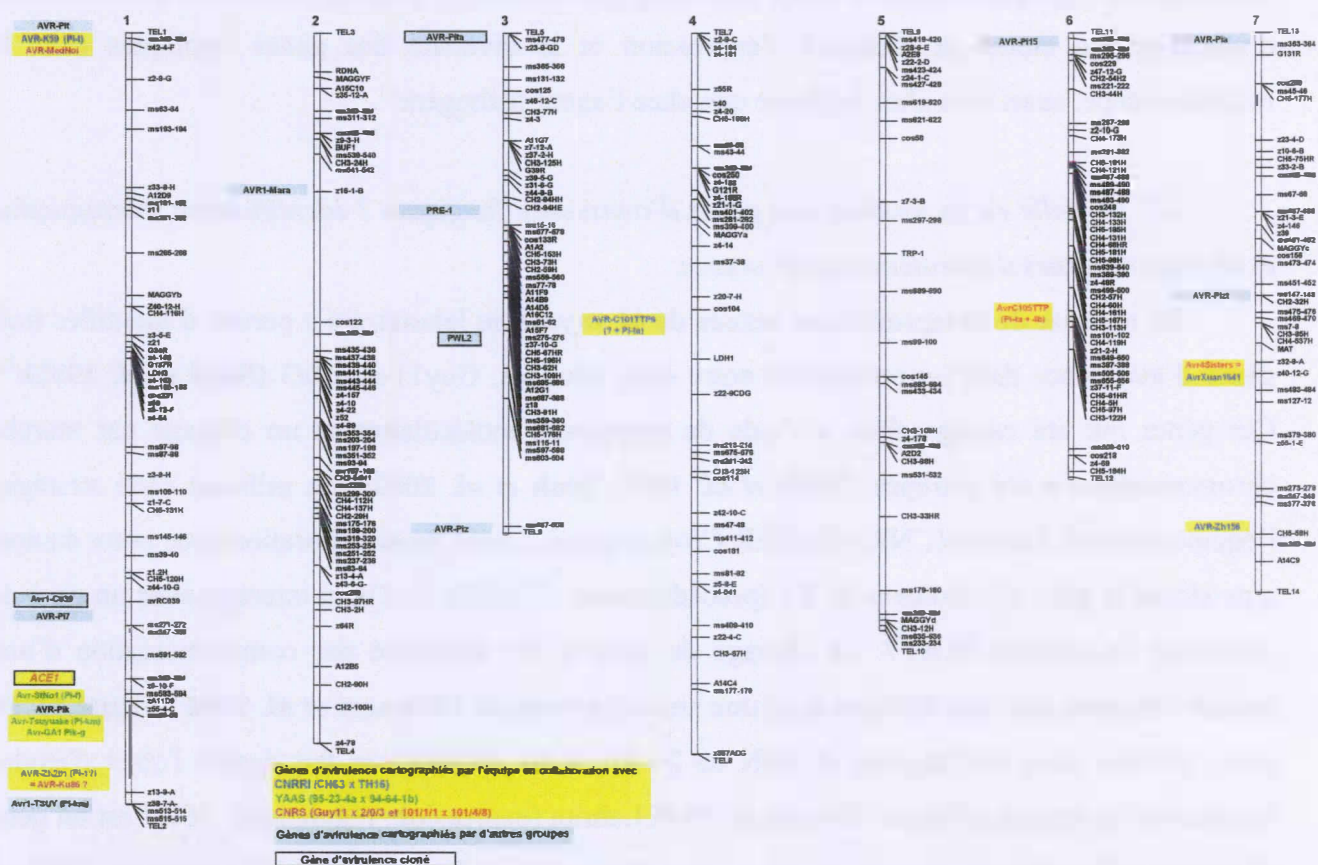


Figure 5 : Cartographie des gènes d'avirulence de *Magnaporthe oryzae*.

2008a). L'expression de ces gènes est coréglée (Collemare 2007, Collemare *et al.* 2008a) et spécifique d'une étape précoce de l'infection (Fudal *et al.* 2007), ce qui laisse supposer qu'ils seraient impliqués dans le pouvoir pathogène. Notre hypothèse de travail est que ce n'est pas le produit du gène d'avirulence *ACE1* qui est reconnu mais le métabolite secondaire qu'il synthétise (Figure 5). L'équipe de M-H Lebrun tente actuellement de produire et d'identifier ce métabolite.

Plus récemment, à partir de la séquence du génome de *M. oryzae* nous avons défini des marqueurs microsatellite et développé une carte dense pour un croisement entre souches de l'agent pathogène (Kaye *et al.* 2003 ; Kaye *et al.* en préparation). Ce croisement est considéré comme un croisement de référence par la communauté scientifique. Cette carte de référence a été utilisée pour construire rapidement des cartes de deux autres croisements dans lesquels des gènes d'avirulence ont été identifiés (Kaye *et al.* en préparation ; Wang *et al.* 2005 ; Li, Kaye et Tharreau non publié ; Figure 5). Au total, 26 gènes d'avirulence ont été cartographiés chez *M. oryzae* dont 13 dans notre équipe en collaboration avec des partenaires (Figure 5). Ces 13 gènes sont localisés à 8 loci : 4 sur le chromosome 1, 1 sur le chromosome 4, 1 sur le chromosome 6 et 2 sur le chromosome 7. Des tests d'allélisme sont à réaliser pour déterminer le nombre exact de gènes différents en ségrégation et pour tester leur identité avec des gènes d'avirulence déjà décrits (Figure 5). Un de ces gènes a été cloné (*ACE1*). Quatre des loci sont délimités par deux marqueurs distants. Les trois autres loci sont encadrés par un télomère et un marqueur relativement proche (1.4 à 9.9 cM). Pour l'un deux une carte physique a été établie et des essais de complémentation ont été réalisés. Pour des raisons techniques, la complémentation n'a pas été observée et doit être répétée. Pour deux autres gènes d'avirulence, les marqueurs sont suffisamment proches pour envisager la réalisation d'une carte physique. Ces résultats permettent d'envisager le clonage de nouveaux gènes d'avirulence de *M. oryzae*.

En dehors d'*ACE1*, quatre gènes d'avirulence de *M. oryzae* ont été clonés par différentes équipes. Ces quatre gènes codent pour de petits peptides de 30 à 223 aa qui sont probablement sécrétés (Tableau 1). Ces protéines ne se ressemblent pas et, à l'exception d'*AvrPita* qui est une métalloprotéase, leur fonction n'est pas connue. Plus généralement, les protéines d'avirulence fongiques sont de petits peptides potentiellement sécrétés, qui ne se ressemblent pas et qui non pas de fonction connue (Gout *et al.* 2007). Chez les bactéries phytopathogènes, des familles de gènes d'avirulence (*AvrBS3*) et leur fonction ont été identifiées (White *et al.* 2000). Chez les Oomycètes, les protéines des gènes d'avirulence clonés ont en commun un motif (RXLR) de sécrétion (Morgan et Kamoun 2007). La séquence complète des génomes de plusieurs Oomycètes a permis de montrer que ce motif est très fréquent (une centaine de gènes par génome). Ce motif n'a pas été détecté chez les champignons « vrais ». Les théories actuelles de coévolution entre plantes et champignons ou bactéries phytopathogènes proposent que les gènes d'avirulence codent pour des effecteurs dont le

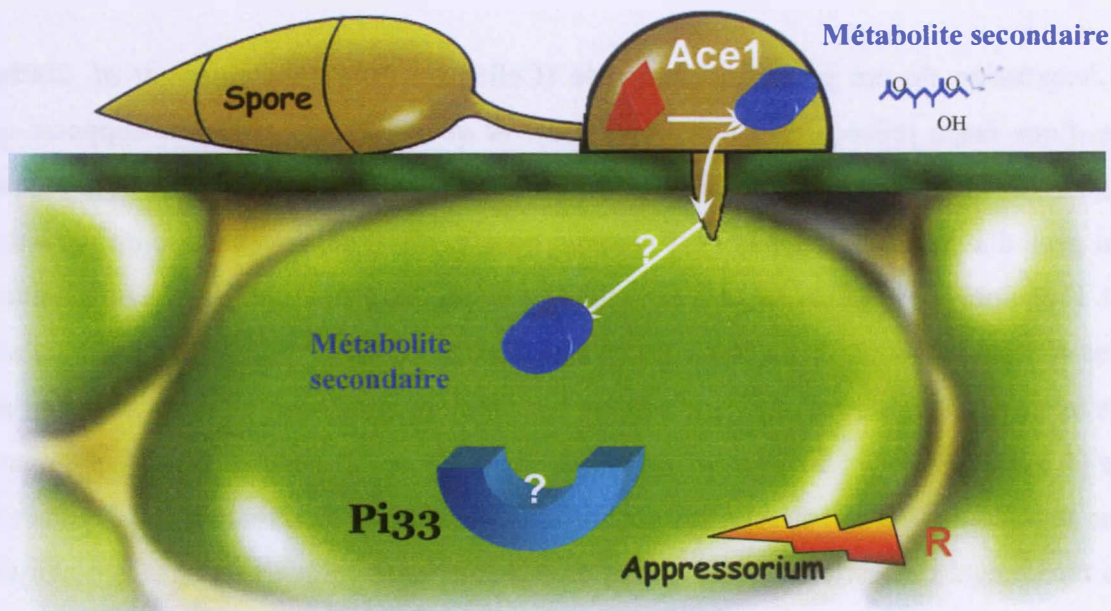


Figure 6. Modèle d'interaction entre *Magnaporthe oryzae* (ACE1) et le riz (Pi33).

La PKS-NRPS ACE1 est impliquée dans la production d'un métabolite secondaire qui serait sécrété dans les tissus végétaux. Ce métabolite interagirait directement ou indirectement avec le produit du gène de résistance Pi33. Cette interaction déclencherait les mécanismes de défense de la plante. D'après E. Ballini.

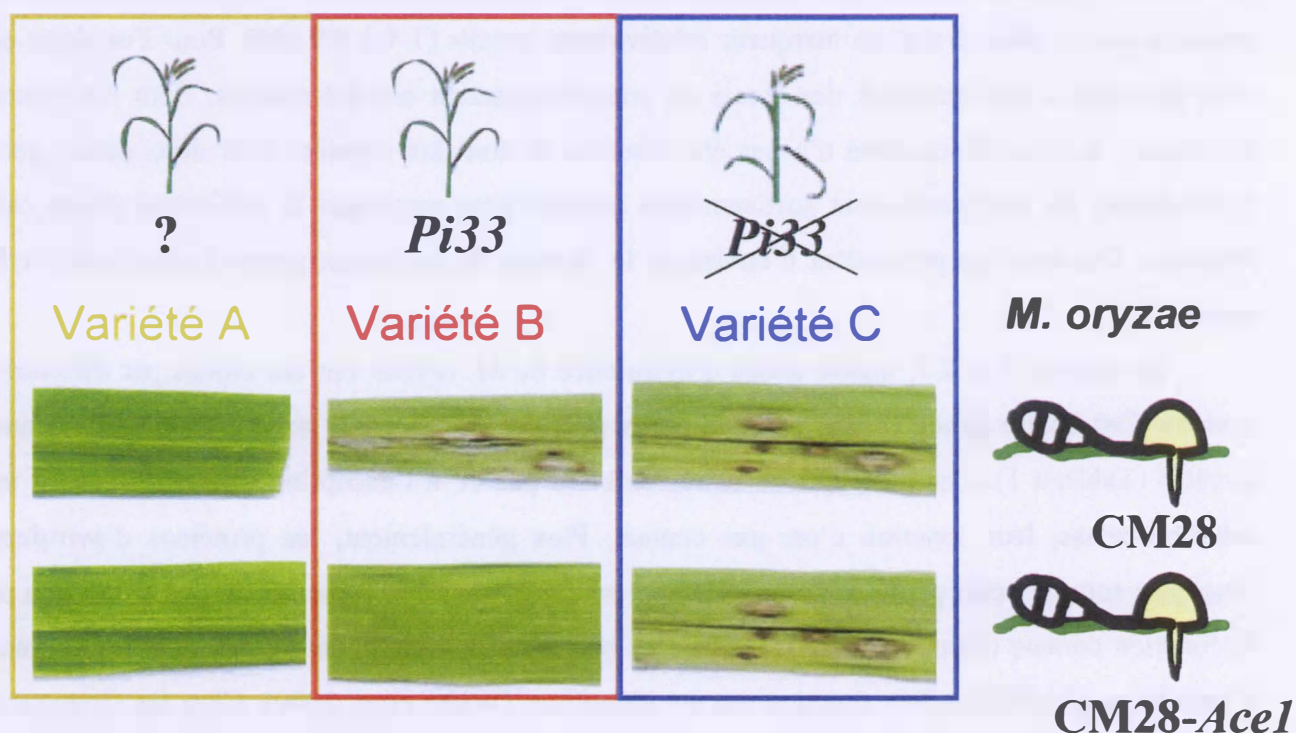


Figure 7. Utilisation de souches isogéniques pour la détection de Pi33.

Pour détecter la présence de Pi33 dans une variété, les deux souches isogéniques sont inoculées en parallèles. Le gène est considéré comme étant présent si la variété est résistante à la souche CM28-31C12 (transformée avec ACE1) et sensible à la souche sauvage CM28. D'après E. Ballini.

rôle initial est de neutraliser certains mécanismes de défense des plantes (White *et al.* 2000, Jones et Dangl 2007). Ces théories sont soutenues par des résultats expérimentaux chez les bactéries (White *et al.* 2000, Jones et Dangl 2007), les Oomycètes (Jones et Dangl 2007, Morgan et Kamoun 2007) et plus récemment chez les champignons (van Esse *et al.* 2007, Houterman *et al.* 2008, Shabab *et al.* 2008). Ces effecteurs ont ensuite été pris pour cible par les gènes de résistance pour reconnaître les attaques par les agents pathogènes et déclencher des mécanismes de défense. Bien qu'*ACE1* soit un gène d'avirulence atypique, il n'est pas exclu qu'il puisse s'intégrer à ce modèle général d'interactions. Dans ce cas, ce ne serait pas le produit du gène d'avirulence qui serait reconnu mais le métabolite secondaire produit par *ACE1* (Figure 6). Ainsi, accéder au métabolite *ACE1* permettrait d'identifier sa cible et, potentiellement, un des éléments de la voie régulant la résistance. D'une manière générale, les métabolites 2^{aires} ont probablement un rôle important dans le pouvoir pathogène des champignons. Les enzymes de biosynthèse de ces métabolites sont abondantes chez les champignons Ascomycètes phytopathogènes et en particulier chez *M. oryzae*. Les métabolites 2^{aires} produits comprennent des toxines et des inhibiteurs qui peuvent manipuler ou détruire l'hôte (Collemare *et al.* 2008b). L'étude de ces métabolites est donc complémentaire de l'étude des petits peptides sécrétés car ce sont de bons candidats pour le rôle d'effecteur.

2.2.2 Comment les produits des gènes de résistance et d'avirulence interagissent-ils ?

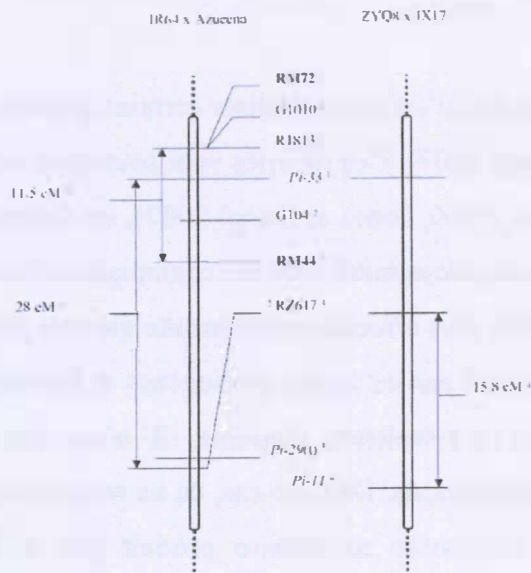
Identification, cartographie et clonage du gène de résistance Pi33, correspondant à ACE1.

Pour comprendre au niveau moléculaire l'interaction entre gène d'avirulence et gène de résistance, il est nécessaire de cloner les gènes impliqués chez les deux partenaires : l'agent pathogène (gène d'avirulence) et l'hôte (gène de résistance). La production du métabolite secondaire synthétisé par *ACE1* est en cours dans l'équipe de M-H Lebrun. Nous nous sommes donc attachés à identifier et caractériser le gène de résistance correspondant à *ACE1*.

Quatre souches virulentes de l'agent pathogène ont été transformées avec un cosmide contenant *ACE1*. Nous avons ainsi généré quatre couples de souches isogéniques au gène d'avirulence près. Ces couples ont été exploités pour rechercher, dans d'autres cultivars de riz qu'IRAT7, la présence du gène de résistance correspondant au gène d'avirulence cloné. En effet, toute variété sensible à au moins une des 4 souches mais résistante à la même souche transformée avec le gène d'avirulence, contient probablement ce gène de résistance (Figure 7). Entre autres, les variétés de riz C101Lac (variété différentielle contenant le gène de résistance à la pyriculariose *Pi1*), IR64, Bala et ZYQ8 contiennent ce gène de résistance (Berruyer *et al.* 2003 ; Ballini *et al.* 2007). Chez la variété ZYQ8 un gène de résistance à la pyriculariose nommé *Pi11(t)* a été décrit.

Figure 8. Cartographie de *Pi33*

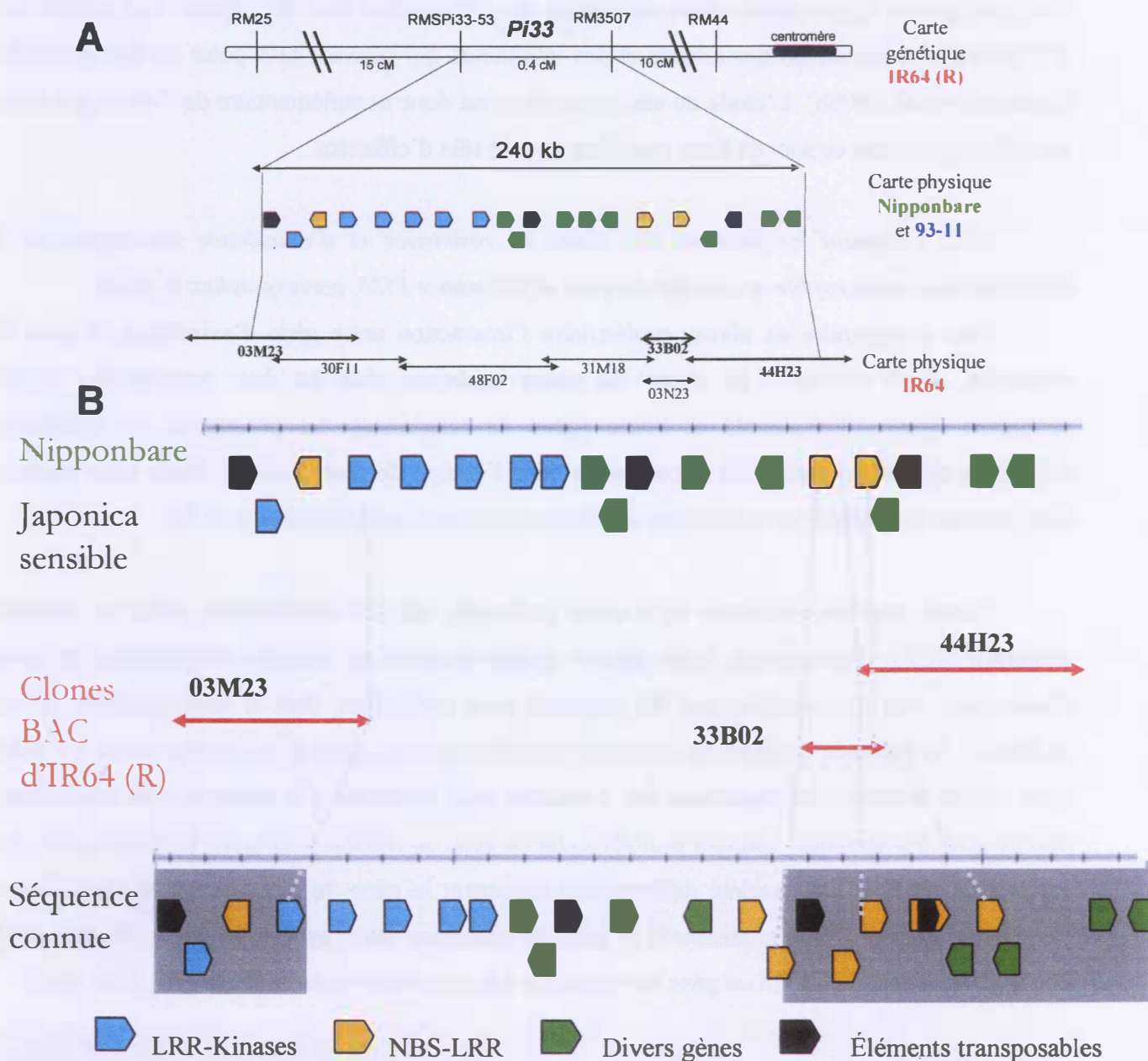
Fig. 1 Mapping of the resistance gene corresponding to the *ACE1* *M. grisea* avirulence gene in the IR64 × Azucena and ZYQ8 × JN17 crosses: ¹Mapped during this study. ²Mapped during the EGRAM project (Filloux et al. 2000). For a complete map and details, see Sallaud et al. 2003. ³Mapped by Sallaud et al. 2003. ⁴Mapped by Zhu et al. (1993) ⁵Distance calculated in this study



Berryuer et al., 2003 Theoretical and Applied Genetics.

© Springer-Verlag 2003

Figure 9. Cartographie physique de *Pi33*. A. Carte génétique, gènes candidats chez la variété Nipponbare et clones BAC couvrant la zone de *Pi33* chez la variété IR64. B. Gènes candidats supplémentaires identifiés chez IR64 par séquençage de 3 clones BAC. D'après E. Ballini.



Nous avons initié la cartographie du gène de résistance en utilisant des couples souche sauvage/souche transformée avec *ACE1*. Les deux souches d'un couple ont été inoculées sur les descendants des croisements entre IR64 x Azucena (100 lignées haploïdes doublés, HD) et Azucena x Bala (100 Single Seed Descent, SSD en F6) déjà utilisés pour la construction de cartes génétiques du riz. IR64 et Bala sont résistantes alors qu'Azucena est sensible. Ce travail nous a permis d'obtenir une première position du gène de résistance sur le chromosome 8 du riz (Figure 8) et donc de démontrer qu'il ne s'agit pas de *Pi1* (localisé sur le chromosome 6) comme pouvait le suggérer la résistance de C101Lac. Par des tests d'allélismes, nous avons également pu confirmer que le gène de résistance correspondant à *ACE1* et *Pi11(t)* sont sur le chromosome 8 mais qu'ils ne sont pas au même locus. Des analyses sur des descendances F1 et F2, ont confirmé la ségrégation d'un seul gène responsable du phénotype résistant et ont montré le caractère dominant de ce gène (Berruyer *et al.* 2003). Nous avons donc décrit un nouveau gène de résistance du riz à la pyriculariose que nous avons nommé *Pi33*.

Une cartographie fine a ensuite été réalisée avec 800 descendants HD et SSD du croisement IR64 x Azucena. Le gène a ainsi été localisé dans un intervalle de 0.5 cM. Cette zone correspond à 240 kb chez la variété modèle Nipponbare dont la séquence du génome est disponible (Ballini *et al.* 2007 ; Figure 9A). Cette variété ne possède pas *Pi33*. Dans cette zone, nous avons pu identifier 21 gènes potentiels dont 3 appartiennent à la famille des NBS-LRR (Nucleotide Binding Site-Leucine Rich Repeat ; Figure 9A). Cette famille rassemble la plupart des gènes de résistance de plantes clonés. Une carte physique de la zone chez la variété résistante IR64 a été réalisée. Dans cette variété la zone correspondante est de l'ordre de 300 kb. Le séquençage de trois clones BAC (Bacterial Artificial Chromosome) d'IR64, sur les sept qui couvrent la zone, met en évidence au moins trois gènes supplémentaires de type NBS-LRR (Figure 9B).

Pour cloner le gène, nous avons utilisé deux stratégies complémentaires : une approche sans *a priori* et une seconde avec *a priori* sur la fonction du gène de résistance. Dans le premier cas, il s'agit de faire des tests de complémentation d'une variété sensible avec de l'ADN génomique de la variété résistante. Nous avons tenté des transformations de clones BAC entiers couvrant une partie du locus de *Pi33*, sans succès. Des complémentations avec des sous-clones de clones BAC sont à réaliser. Pour la deuxième stratégie, nous faisons l'hypothèse que le gène de résistance *Pi33* est un gène « classique » de type NBS-LRR. Il faut donc identifier le gène responsable du phénotype parmi ces candidats. Nous avons utilisé plusieurs méthodes. Nous avons comparé le polymorphisme des séquences de ces gènes candidats chez les variétés résistantes et chez les variétés sensibles. L'attendu est que l'allèle de résistance est le même chez les variétés résistantes et est différent du ou des allèles de sensibilité. Un polymorphisme entre allèles des variétés résistantes et sensibles est donc attendu. Nous avons mesuré l'expression de ces gènes chez des variétés résistantes et des

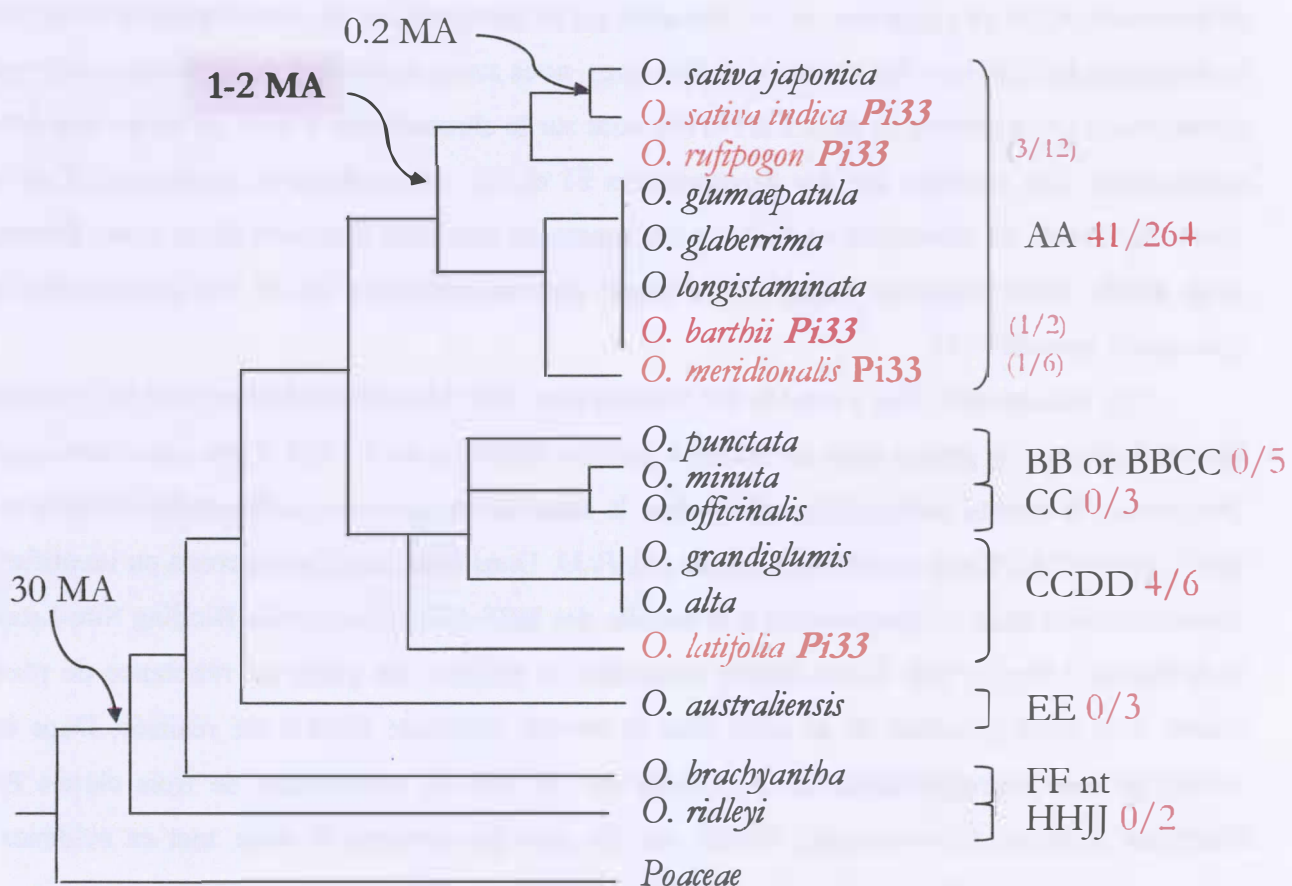


Figure 10. Distribution de *Pi33* au sein des espèces sauvages.

Arbre adapté de Ge *et al.* 1999. Les espèces présentant des variétés qui posséderaient *Pi33* sur la base des tests pathologiques sont en rouge. Les génomes des différentes espèces sont à droite. Le rapport à droite du génome représente nombre de variétés possédant *Pi33* par rapport au nombre total de variété testées exploitables. D'après E. Ballini.

variétés sensibles et en conditions compatibles ou incompatibles. Les gènes qui ne s'expriment pas chez les variétés résistantes ne sont pas de bons candidats. Aucune de ces méthodes n'a permis d'identifier un candidat dont la séquence est identique chez toutes les variétés résistantes et qui s'exprime. Mais la forte homologie de séquence entre les gènes à tester n'a pas permis d'évaluer le polymorphisme et de mesurer l'expression de tous les candidats. Enfin, nous avons recherché et identifié 22 mutants sensibles dans une collection de mutants de la variété C101LAC. Nous avons donc probablement identifié des mutants de *Pi33*. Nous recherchons actuellement par Tilling dans les différents gènes candidats les mutations qui seraient responsables du phénotype observé.

Bien que nous n'ayons pas cloné *Pi33*, nous avons initié des travaux sur la distribution de ce gène chez le riz en utilisant les couples de souches isogéniques pour le détecter. Les études préliminaires sur la diversité au locus de *Pi33*, laissent supposer qu'au moins deux sources de *Pi33* ont été utilisées au cours des programmes de sélection variétale. Le gène de résistance a été détecté dans une espèce sauvage de riz (*Oryza rufipogon*), ancêtre du riz cultivé, et aurait donc une origine ancienne (Berruyer *et al.* 2003 ; Ballini *et al.* 2007). Nous avons pu montrer qu'un gène reconnaissant les souches avirulentes *ACE1* est présent non seulement dans l'espèce cultivée *Oryza sativa*, mais aussi dans différentes espèces sauvages proches (du même groupe génomique AA) ou plus éloignées (groupe CCDD ; Figure 10 ; Ballini 2008). En particulier, la fréquence de *Pi33* est relativement élevée (25%) chez l'espèce à partir de laquelle le riz a été domestiqué. Ces résultats tendent à montrer que *Pi33* était déjà présent chez des espèces apparues il y a 1 à 2 millions d'années. Nous avons également étudié la distribution de *Pi33* au sein de l'espèce cultivée *O. sativa*. Cette espèce est structurée en cinq groupes génétiques dont deux principaux issus de domestications indépendantes : indica et japonica. A partir d'un échantillon de 208 variétés représentatives de la diversité de l'espèce, nous avons pu montrer que *Pi33* n'est présent que dans le groupe indica. Ce résultat suggère que *Pi33* a été perdu lors de la domestication du groupe japonica ou qu'il n'était pas présent dans le pool génétique à l'origine de ce groupe.

Le nombre et la phylogénie des gènes de type NBS-LRR et LRR-kinase ont été étudiés à partir des séquences disponibles pour la variété japonica Nipponbare et pour les variétés indica 93-11 et IR64. Le nombre de gènes des deux familles est plus important chez les variétés de type indica. La comparaison de tous les gènes au sein d'une famille met en évidence deux niveaux de polymorphisme. Les similarités de séquence des gènes orthologues chez les différentes variétés sont supérieures à 95% alors qu'elles varient de 75 à 88% entre paralogues au sein d'une même variété. Ces résultats montrent que la plupart des gènes du cluster étaient présents avant la séparation des deux-sous espèces indica et japonica et que des événements de duplication avaient eu lieu avant la séparation. Ces résultats sont donc en faveur d'une origine ancienne de *Pi33*. Par ailleurs, le polymorphisme observé entre gènes de type NBS-LRR orthologues chez différentes variétés et

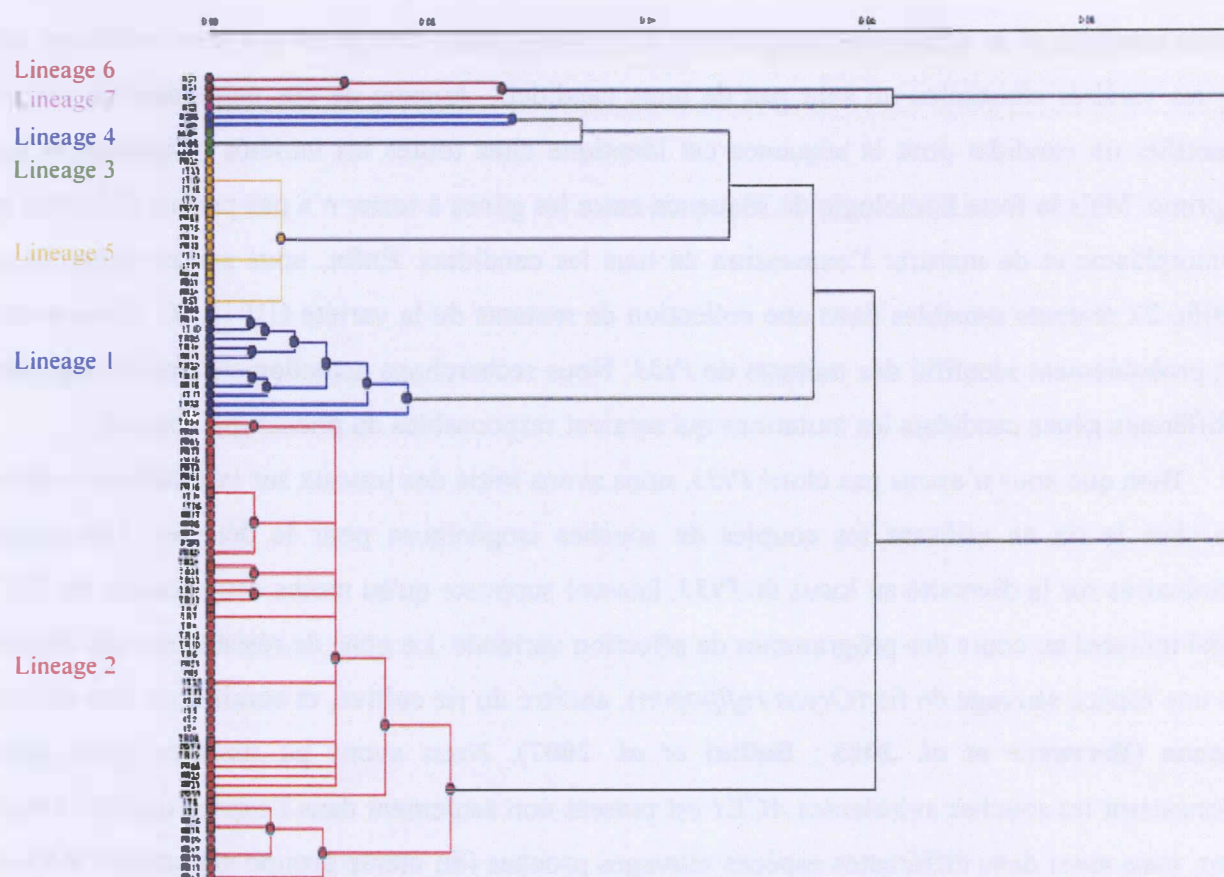


Figure 11. Structure en lignées clonales de la population européenne de *M. oryzae*.

Arbre UPGMA construit à partir de données RAPD. Données non publiées.

Tableau 2. Relation entre lignées clonales et pathotypes en Europe. Données non publiées.

Lineage	L1	L1	L4	L3 and L5	L2
Pathotype	1	2	3	4	5
Nb of isolates	6	1	2	13	28
Susceptible (3 var.)	S	S	S	S	S
Bahia	R	R	S	S	S
Pi-i (4 var.)	R	R	R	S	S
Pi-t (4 var.)	R	R	R	R	S
Pi-f	S	R	R	R	R
Resistant (10 var.)	R	R	R	R	R

entre paralogues chez une même variété est en accord avec une évolution de type « birth and death » (Michelmore et Meyers 1998). Dans ce modèle, un gène de résistance est dupliqué en tandem ou à un autre locus et les copies générées évoluent indépendamment (mutations, réarrangements) ou de manière concertée (conversion génique) pour générer des spécificités nouvelles. Ce type d'évolution semble assez commun chez les gènes de résistance organisés en clusters et a été proposé en particulier pour expliquer la structure des locus des gènes de résistance du riz à *Xanthomonas oryzae* (*Xa21*, Song *et al.* 1997) et à la pyriculariose (*Pi2/Pi9*, Zhou *et al.* 2007).

2.3 Vers une caractérisation de l'évolution des populations de *M. oryzae*

Si dans l'interaction riz-*M. oryzae* les contournements de résistance sont très fréquents, certains gènes de résistance, ou combinaisons de gènes de résistance, sont moins facilement contournés. La résistance est alors plus durable. La durabilité de la résistance est liée à la résistance elle-même mais également aux populations de l'agent pathogène présentes et à leurs capacités d'adaptation. Pour développer des variétés durablement résistantes, il est donc nécessaire de connaître les gènes de résistance présents dans les variétés utilisées en sélection, d'essayer d'évaluer leur durabilité mais aussi de connaître la diversité de l'agent pathogène et son potentiel d'évolution.

Lorsque nous avons débuté ce travail, les analyses de populations d'agent phytopathogènes étaient encore peu nombreuses. Nous avons donc commencé par essayer de décrire la structure et la diversité des populations de *M. oryzae* à différentes échelles. Les données sur la diversité et la structure des populations de *M. oryzae* sont maintenant disponibles pour plusieurs zones géographiques. Elles ont démontré que la structure observée correspond à une structure de population clonale. Mais, l'évolution des populations en particulier sous pression de sélection exercée par l'hôte reste peu documentée. Notamment, les mécanismes d'apparition de souches virulentes, d'expansion et leur maintien en l'absence de pression de sélection ne sont pas connus dans les populations naturelles. Nous avons abordé ce sujet en nous appuyant sur nos acquis sur le gène d'avirulence *ACE1*.

*2.3.1 Quelles sont la structure et la diversité des populations de *M. oryzae* ?*

Nous avons mis au point ou développé différents marqueurs moléculaires (RAPD, SCAR et microsatellites ; Soubabère *et al.* 2000, Soubabère *et al.* 2001, Bouet *et al.* 2002, Kaye *et al.* 2003, El Guilli *et al.* 2005, Adreit *et al.* 2007) pour caractériser les populations de *M. oryzae*. Ces outils nous ont permis d'étudier les populations de *M. oryzae* à différentes échelles : pays, continent, monde.

Tableau 3. Diversité génétique et pathotypique en Europe et en Côte d'Ivoire

	Nb isolats	Nb lineages	Nb pathotypes	Pathotype /lineage
Europe	80	5	5	1
Côte d'Ivoire	43	5	29	6

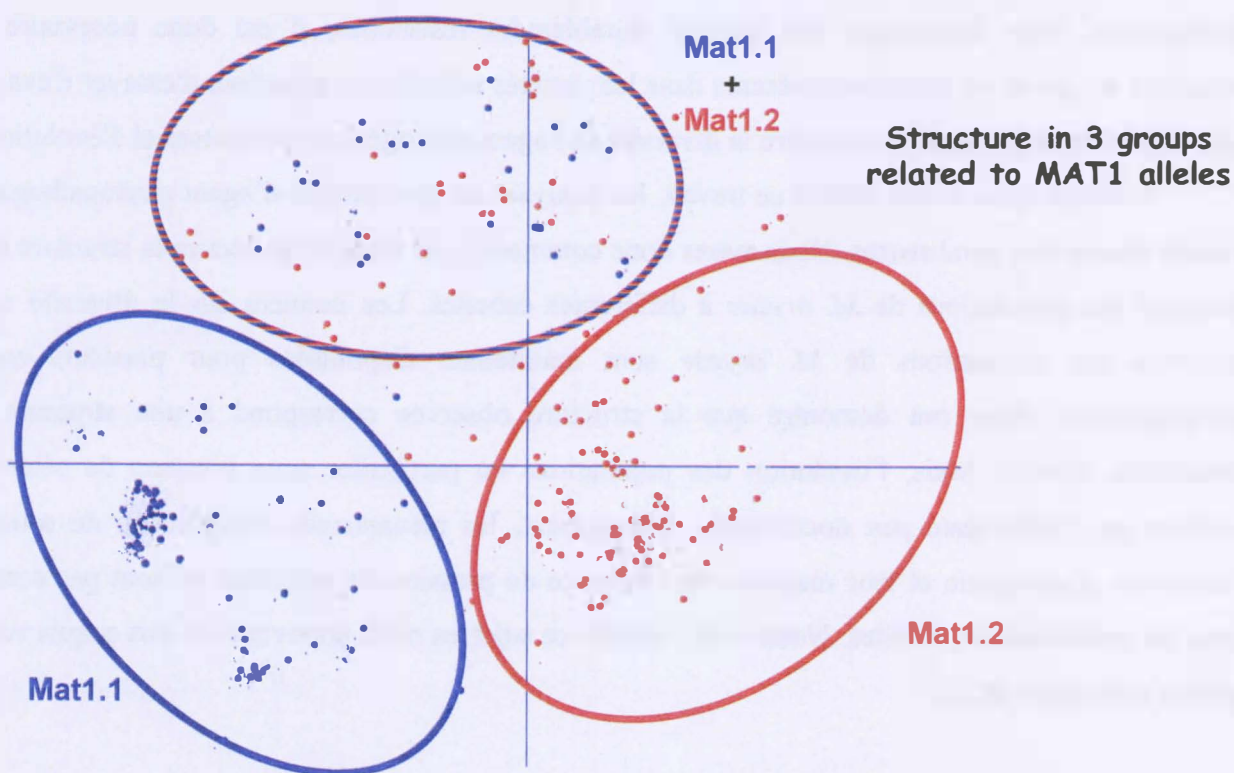


Figure 12. Structure des populations mondiales de *Magnaporthe oryzae*. Chaque point représente le génotype d'une souche déterminée avec 13 marqueurs microsatellites. En bleu sont représentées les souches de signe de compatibilité sexuelle type *Mat1.1*, en rouge souches de signe *Mat1.2*. Tharreau et al. Actes de la 4th International Rice Blast Conference. Sous presse.

Nous avons conduit des études de la structure et de la diversité des populations de *M. oryzae* au Maroc (El Guilli *et al.* 2005), en Côte d'Ivoire (Bouet *et al.* 2002) et en Europe (Jorge 1998 ; Roumen *et al.* 1999). Comme dans la majorité des autres régions du monde, une structure en lignées non recombinantes est observée (Brygoo *et al.* 1998, Carlier et Tharreau 2003; Figure 11). Cette structure est conforme aux attendus pour un organisme à multiplication clonale. En effet, bien que certaines souches de *M. oryzae* puissent produire un cycle de reproduction sexuée complet *in vitro*, la reproduction sexuée n'a jamais été observée en dehors du laboratoire et la majorité des souches est stérile. Dans ces trois régions, le nombre de lignées est relativement faible. A diversité génotypique comparable, la diversité pathotypique est plus élevée en Côte d'Ivoire (1 souche \approx 1 pathotype ; Tableau 2) qu'au Maroc ou en Europe (1 lignée clonale \approx 1 pathotype ; Tableaux 2 et 3). En s'appuyant sur les résultats publiés par d'autres équipes, il est possible de généraliser cette observation selon laquelle, en zone tempérée la diversité pathotypique est plus réduite qu'en zone tropicale (Carlier et Tharreau 2003). Cette différence s'explique probablement par une différence de diversité de l'hôte. En zone tempérée seuls des cultivars de riz du groupe des japonicas tempérés sont cultivés et la diversité des gènes de résistance dans ces cultivars est très réduite. En zone tropicale des cultivars de type indica, japonica tropical et d'autres groupes sont cultivés et la diversité des gènes de résistance dans ces cultivars est plus importante. L'exception notable du Japon, où la diversité pathotypique est beaucoup plus importante que dans les autres zones tempérées, confirme notre hypothèse puisque, contrairement aux autres régions tempérées, de nombreux gènes de résistance à la pyriculariose ont été introduits dans les variétés japonaises.

La structure des populations de *M. oryzae* nous renseigne également sur la dispersion de l'agent pathogène. En dépit d'un certain isolement géographique des zones rizicoles en Europe (distantes de plusieurs centaines de kilomètres), aucune structuration géographique à l'échelle du continent n'est observée. Ce résultat suppose que des migrations assez importantes se produisent à l'échelle continentale. D'après des études épidémiologiques et microbiologiques, la capacité de dispersion et de survie des spores de *M. oryzae* sont limitées. Il est donc vraisemblable que les migrations à longue distance soient le résultat de transport de matériel infecté (semences). En Europe, les échanges de semences de riz sont fréquents.

Une caractérisation des populations mondiales de *M. oryzae* avec des marqueurs moléculaires a été réalisée. Plus de 650 souches ont été typées avec 11 marqueurs SCAR (Soubabère *et al.* 2000) et plus de 1 700 avec 13 marqueurs microsatellites. Cette étude, encore en cours d'analyse, montre une structuration en trois groupes (Figure 12). Un de ces groupes est constitué de souches du type sexuel *Mat1.1*, le deuxième de souches de type *Mat1.2*. Le troisième rassemble des souches des deux types sexuels et la majorité des souches capables de faire de la reproduction sexuée *in vitro*. La structuration observée est en accord avec l'hypothèse de l'existence

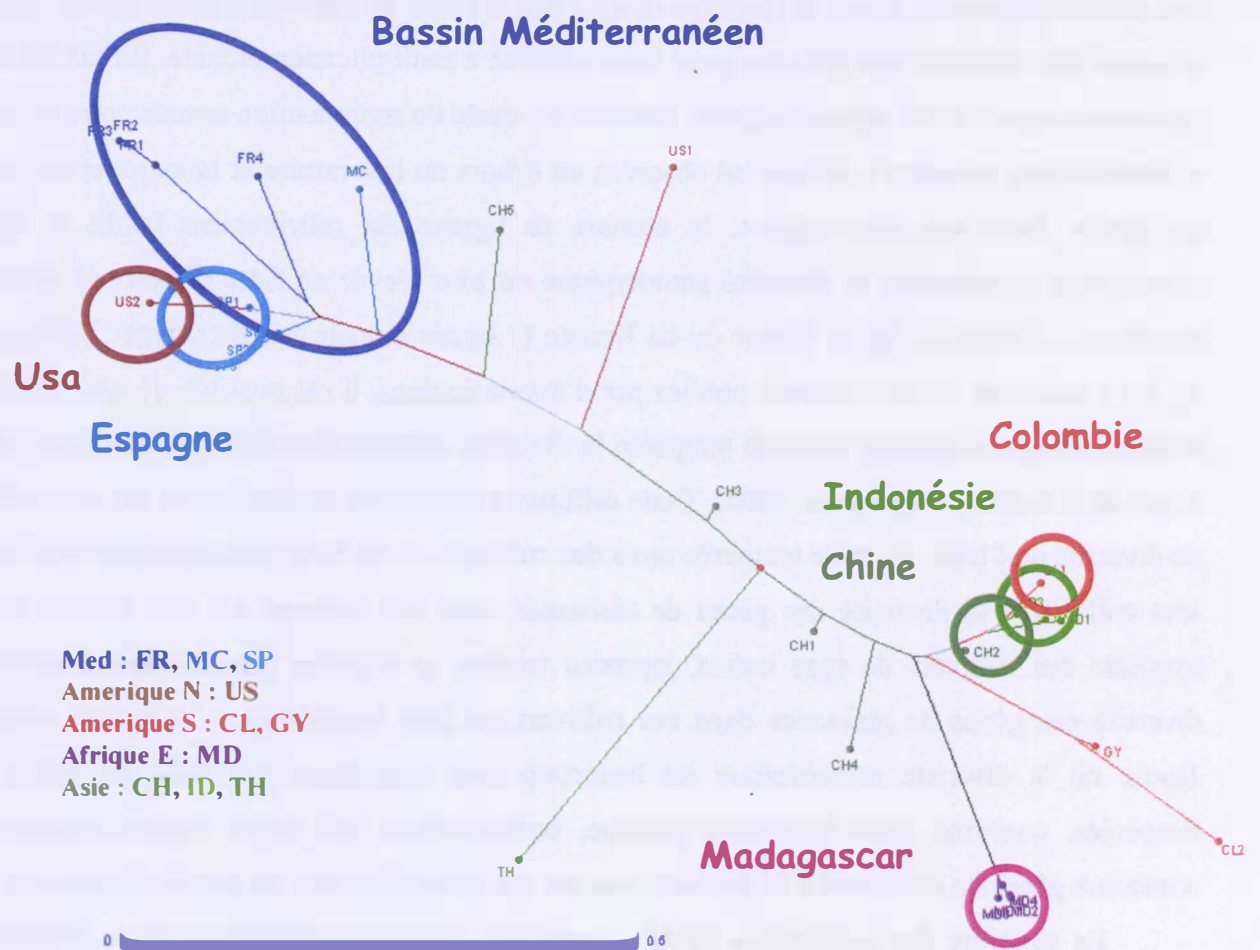


Figure 13. Structure géographique des populations mondiales de *Magnaporthe oryzae*. Chaque point représente une population dont la diversité a été mesurée avec 13 marqueurs microsatellites. Données non publiées.

d'une reproduction sexuée dans la zone présumée d'origine de l'agent pathogène (zone de diversité : Piémont Himalayen) et de la perte de la sexualité chez les deux autres groupes par perte d'un type sexuel lors d'événements de fondation. Par ailleurs, la structuration semble correspondre à une structuration par l'hôte pour lequel deux groupes génétiques majeurs ont déjà été identifiés (*indica* et *japonica* ; Soubabère *et al.* 2000, Tharreau *et al.* in press). Si la structuration observée correspond parfois à l'origine géographique des souches (Europe, Madagascar, Indonésie ; Figure 13), des souches d'origines géographiques très différentes sont présentes dans les trois groupes. Cette faible structuration géographique et la présence dans des pays très éloignés de souches avec des génotypes identiques ou très proches (par exemple, Chine, Colombie et Indonésie ou Espagne et USA ; Figure 13), est un argument en faveur de migrations à très longue distance (intercontinentales ; Soubabère *et al.* 2000, Tharreau *et al.* in press). Cette hypothèse est confirmée par l'étude de la distribution des allèles de virulence d'*ACE1* (voir ci-dessous).

2.3.2 Comment apparaissent et se répandent les nouvelles virulences ? Le cas d'*ACE1*.

Les mutations conduisant de l'avirulence vers la virulence ont été étudiées pour de nombreux gènes chez différentes espèces fongiques. Des mutations ponctuelles non synonymes, décalages du cadre de lecture, délétions complètes du gène et l'insertion de transposons ont été identifiées (Joosten *et al.* 1997, Orbach *et al.* 2000, Kang *et al.* 2001, Farman *et al.* 2002, Luderer *et al.* 2002, Dodds *et al.* 2004, Rep *et al.* 2004, Schürch *et al.* 2004, Westerink *et al.* 2004, Catanzariti *et al.* 2006, Ridout *et al.* 2006). Toutefois, la plupart de ces mutations ont été observées au laboratoire sur des mutants spontanés ou induits. Peu de caractérisations d'isolats virulents à large échelle ont été réalisées sur des populations naturelles de champignons phytopathogènes afin de déterminer comment les génotypes virulents apparaissent et se répandent. Schürch *et al.* (2004) ont montré que dans les populations naturelles de *Rhynchosporium secalis*, l'inactivation du gène d'avirulence *NIP1* (correspondant au gène de résistance *Rrs1*) est majoritairement due à la délétion du gène et plus rarement à des mutations ponctuelles. Gout *et al.* (2007) ont montré que l'inactivation du gène d'avirulence *AvrLm1* de *Leptosphaeria maculans* est due à un événement unique de délétion d'un fragment chromosomique de 260 kb. Cet événement pourrait avoir été favorisé par l'environnement génétique d'*AvrLm1* qui est le seul gène localisé au milieu de 269 kb de séquence non codante, composée de rétrotransposons tronqués et dégénérés (Gout *et al.* 2006). L'étude du polymorphisme de quatre gènes d'avirulence de *Cladosporium fulvum* a permis de montrer que l'apparition de souches virulentes vis-à-vis d'un gène de résistance donné était en grande partie due à des mutations ponctuelles indépendantes. L'apparition de races complexes résulterait plus probablement de recombinaisons que d'accumulations de mutations successives (Stergiopoulos *et al.* 2007). Guérin *et al.* (2007) ont montré que la virulence de *Venturia inaequalis*

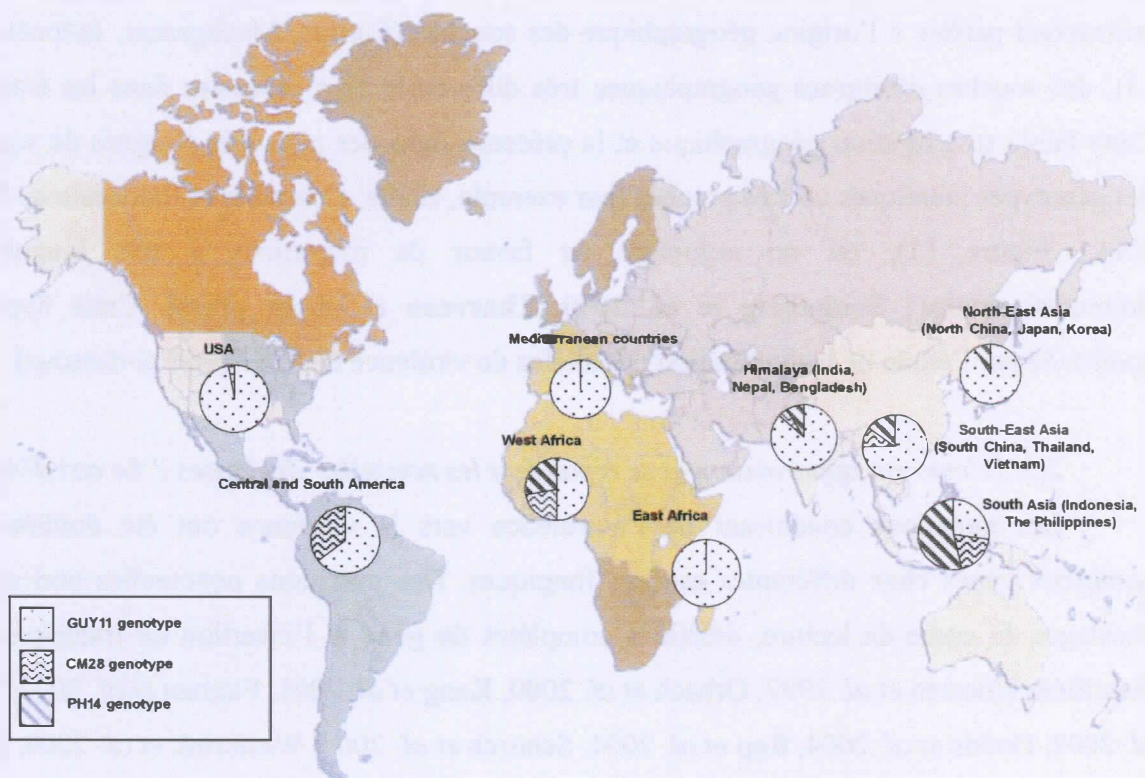


Figure 14. Distribution géographique des génotypes avirulent et virulents d'*ACEI* détectés par PCR. Deux génotypes virulents sont détectés : CM28 (en jaune) et PH14 (en bleu). Le génotype 0 (en gris) correspondent à une absent d'amplification. Tharreau et al. Actes de la 4th International Rice Blast Conference. Sous presse.

vis-à-vis du gène de résistance *Vf* du pommier a probablement une origine unique et que la dissémination en Europe c'est faite par des événements peu fréquents de migration à longue distance. Chez *Magnaporthe oryzae*, le seul exemple documenté au niveau moléculaire est l'apparition en Arkansas d'une souche virulente surmontant le gène de résistance *Pita* et ayant causée une épidémie au champ. Cette virulence est apparue par insertion d'un transposon dans le gène d'avirulence *Avr-Pita* (Zhou *et al.* 2008).

En collaboration avec l'équipe de Marc-Henri Lebrun (CNRS-BAYER Crop Science, Lyon), nous avons réalisé des études du polymorphisme du gène d'avirulence *ACE1* (voir ci-dessus) et avons étudié la distribution des différents allèles dans la population mondiale pour comprendre comment des souches virulentes peuvent apparaître et comment elles se répandent (Couch *et al.* 2005 ; Fudal *et al.* article en préparation ; Figure 14). Nous avons pu mettre en évidence trois types de souches virulentes, correspondant à deux mécanismes d'apparition différents. Certaines souches virulentes ont pu apparaître par mutation ponctuelle du gène d'avirulence. Mais, contrairement à toute attente, ces souches sont minoritaires dans la population mondiale. Les deux génotypes virulents majoritaires résultent d'un événement unique, complexe et probablement ancien de duplication et délétion du gène *ACE1* (Couch *et al.* 2005 ; Fudal *et al.* article en préparation). Pour *ACE1*, l'apparition de souches virulentes serait donc un événement plutôt rare. Mais, la distribution géographique de ces deux génotypes virulents majoritaires est très large (Figure 14). Ces souches virulentes se seraient répandues à l'échelle mondiale. Ces résultats confortent notre hypothèse de migrations intercontinentales. Le transport de semences infectées pourrait très facilement expliquer ces migrations. En effet, lors de la Révolution verte, de nombreuses variétés portant *Pi33* ont été utilisées pour créer les variétés améliorées car elles étaient également porteuses d'un gène de semi-nanisme. A cette époque, il y a donc eu de nombreux échanges de matériel végétal à l'échelle intercontinentale. Les seules zones où les génotypes virulents d'*ACE1* ne sont pas identifiés correspondent à des zones où ces variétés n'ont probablement pas été introduites ou ont été peu utilisées dans les programmes d'amélioration variétale. Cette étude montre donc que, dans le cas du gène d'avirulence *ACE1*, le transport par l'homme de matériel infecté a eu un impact majeur sur la dissémination de génotypes virulents et que le contournement de *Pi33* (le gène de résistance correspondant à *ACE1*) aurait probablement pu être retardé ou évité dans certaines zones géographiques par des mesures de quarantaine.

2.4 Conclusion et perspectives

Le couple *Pi33/ACE1* offre un bon exemple des allers-retours possibles entre génétique moléculaire et génétique des populations. La connaissance de la diversité des interactions permet de mieux choisir les couples d'individus qu'il faut étudier au niveau moléculaire et fonctionnel. En

retour, les gènes clonés soumis à sélection sont un matériel complémentaire des marqueurs neutres pour étudier l'évolution des populations.

Le métabolite produit par *ACE1* est en cours de production. Le clonage du gène de résistance correspondant *Pi33* est donc un objectif prioritaire pour aller plus loin dans la caractérisation fonctionnelle de cette interaction. Les résultats acquis sur *Pi33* permettent d'envisager son clonage à moyen terme.

La collection unique de souches de *M. oryzae* nous a donné l'opportunité de réaliser des études de populations à l'échelle mondiale et de faire des hypothèses sur les éléments structurants ces populations. Il reste à valider ces hypothèses en créant de nouveaux jeux de données avec des populations et/ou des marqueurs complémentaires mais aussi en améliorant les méthodes d'analyse des données existantes ou à venir.

3. Programme de recherche à 5 ans

Au cours de ces 18 dernières années, je me suis intéressé principalement au déterminisme génétique et moléculaire des interactions hôte/agent pathogène chez le couple riz/*M. oryzae*. Mais j'ai aussi conduit des études de diversité et de structure des populations de l'agent pathogène. Le programme que j'envisage à 5 ans se fera dans la continuité de ces travaux mais avec une orientation plus marquée vers les études de populations. Ce programme s'inscrit dans la stratégie de l'unité et est construite sur les compétences disponibles dans deux équipes. La compréhension des interactions et des faillites de résistance au niveau moléculaire est maintenant abordée par deux chercheurs de l'équipe Interactions riz-parasites, en particulier au travers de l'étude des effecteurs fongiques. J'ai donc fait le choix de limiter le travail sur la caractérisation des interactions à deux objectifs relatifs à la compréhension du couple *ACE1/Pi33*. Pour le clonage, nous envisageons de poursuivre le travail en nous appuyant sur les personnels permanents de l'équipe. Par ailleurs, ayant choisi d'orienter très fortement mes activités de recherche sur les aspects populationnels, j'ai donc rejoint l'équipe Biologie et Evolution des Champignons Phytopathogènes (Becφ). Les études de populations que nous avons conduites ont généré de nouvelles questions. Les outils, les méthodes et les compétences pour y répondre sont réunies au sein de l'équipe Becφ.

3.1 L'interaction *Pi33/ACE1*

Dans de nombreux pathosystèmes deux questions en relation avec la durabilité des résistances sont fréquemment posées : Y a-t-il un coût associé à la virulence ? Comment se fait l'interaction entre un gène de résistance et le gène d'avirulence correspondant ? Les résultats acquis

dans l'équipe sur les interactions entre le riz et *M. oryzae* et, plus particulièrement, sur le couple *Pi33/ACE1*, permettent de tenter d'y répondre.

3.1.1 Coût des virulences

Dans la perspective d'utiliser des combinaisons de gènes de résistance spécifiques, nous essayons de mesurer si le passage de l'avirulence vers la virulence a un coût. Chez les champignons phytopathogènes, le coût adaptatif des virulences n'a été démontré que dans deux cas. Chez *Melampsora lini* pathogène de populations sauvages de lin, des populations multivirulentes sporulent moins que des populations à spectre plus étroit, suggérant un coût des virulences (Thrall et Burdon 2003). Chez *Leptosphaeria maculans* les souches avirulentes *Avrlm4* forment plus de lésions, plus de lésions sporulantes et des lésions de plus grande tailles que les souches quasi isogéniques mais virulentes (Huang *et al.* 2006). On peut raisonnablement penser que la plupart des équipes qui ont cloné des gènes d'avirulence ont tenté de mesurer un coût de la virulence en comparant des souches isogéniques au gène d'avirulence près. Le petit nombre d'exemples publiés laisse supposer qu'aucun coût n'a été détecté. Etant donné la nature un peu particulière d'*ACE1* et le fait que nous n'ayons trouvé peu de génotypes virulents différents, il se pourrait qu'il échappe au cas général. Il est donc intéressant de mesurer son coût adaptatif. Nous disposons de plusieurs couples de souches isogéniques avirulente/virulente. Nous réaliserons des comparaisons de caractères impliqués dans la compétitivité des souches (croissance et sporulation *in vitro*). Nous mesurerons ensuite l'agressivité des souches virulentes et avirulentes sur différentes variétés sensibles. Enfin, nous réaliserons des expérimentations de compétition. Nous inoculerons un mélange de souches virulente et avirulente et mesurerons l'évolution de la proportion des deux souches après plusieurs cycles de multiplication sur la plante. Nous avons déjà produit des polycycles en serre et les acquis techniques de l'équipe en matière de PCR quantitative doivent permettre de mesurer la fréquence relative de deux génotypes du champignon en mélange.

3.1.2 Caractérisation moléculaire des interactions : Cloner *Pi33*

Le clonage de *Pi33* reste un objectif pour l'équipe. La carte physique du locus de *Pi33* chez une variété résistante permet d'utiliser une stratégie de clonage positionnel. Les différents clones BAC de la zone seront sous clonés et introduits par transformation chez une variété sensible. Les plantes obtenues seront testées pour leur résistance. Un phénotype résistant est attendu pour les plantes complémentées. Nous disposons également de mutants sensibles de *Pi33*. Nous utiliserons une méthode de tilling pour détecter le polymorphisme des différents candidats au locus. Des mutations indépendantes mais dans le même gène sont attendues. Enfin, nous sommes en train de produire une descendance entre une variété portant *Pi33* et une variété sensible pour obtenir une

cartographie très fine de la zone et réduire le nombre de gènes candidats. Lorsque *Pi33* aura été cloné, des études fonctionnelles pourront être initiées. L'interaction avec le métabolite secondaire produit par *ACE1* sera caractérisée. Les études de diversité et d'évolution de *Pi33* pourront être approfondies.

3.2 Génétique et évolution des populations de *M. oryzae*

Les facteurs évolutifs que sont la mutation, la recombinaison, la dérive génétique, les flux de gènes et la sélection déterminent les capacités d'adaptation des agents pathogènes à leur hôte (McDonald et Linde 2002). Les précédentes études de populations de *M. oryzae* suggèrent que la migration et la sélection ont joué un rôle prépondérant sur la structuration des populations à l'échelle mondiale. Il reste toutefois de nombreuses questions en particulier sur l'intensité de ces phénomènes et sur leur fréquence. Par ailleurs, l'existence d'une reproduction très limitée géographiquement n'est pas exclue. Nous chercherons donc à améliorer nos connaissances des facteurs évolutifs de *M. oryzae* qui peuvent faciliter son adaptation aux nouvelles résistances déployées.

3.2.1 Migrations

La phylogéographie est utile pour déduire des histoires évolutives et pour estimer des paramètres génétiques et démographiques (Excoffier 2004, Emerson et Hewitt 2005). Les événements démographiques durant les phases d'expansion tels que le lieu d'introduction, le nombre d'individus introduits et la diversité des individus fondateurs, qui déterminent les capacités d'adaptation et d'émergence de nouveaux agents pathogènes ou de nouveaux génotypes (Lockwood *et al.* 2005) ne sont pas disponibles pour la plupart des agents pathogènes. Jusqu'à peu, les exemples documentés d'introductions de champignons phytopathogènes étaient peu nombreux (*Phytophthora infestans* en Europe, *Cryphonectria parasitica* en Amérique...), et les processus de dispersion qui permettent leur expansion étaient mal connus (Anderson *et al.* 2004). Des études récentes retracent les routes de migrations de champignons phytopathogènes en analysant la structure des populations (Peever *et al.* 2002, Rivas *et al.* 2004, Raboin *et al.* 2006, Gobbin *et al.* 2006, Stuckenbrock *et al.* 2006, Stuckenbrock *et al.* 2007, Gladieux *et al.* 2008, Delmotte *et al.* 2008). L'inférence à partir d'analyses de populations de paramètres génétiques ou démographiques liés aux migrations est donc relativement récente pour les champignons phytopathogènes.

La capacité de migration de *M. oryzae* est un élément à prendre en compte pour déterminer les échelles spatiales pertinentes pour le déploiement des résistances variétales. Pourtant cette capacité de migration est mal connue. Avec l'étude de la distribution géographique des génotypes virulents d'*ACE1*, nous avons pu montrer que les migrations à longue distance peuvent avoir un rôle

important dans la diffusion de nouvelles virulences. Les premières mesures de différenciation à une échelle locale (1 à 10 km) semblent en faveur de migrations à courte distance. En effet, de fortes différenciations peuvent être observées à l'échelle de la dizaine de kilomètres. Ce résultat est en accord avec la capacité limitée de dispersion des conidies de *M. oryzae*. Toutefois, ce résultat doit être confirmé en particulier du fait des effets de la sélection sur la structure des populations. En l'absence de recombinaison, la sélection par l'hôte entraîne la sélection de génotypes adaptés et une forte structuration. Pour mesurer l'effet de la dispersion sur la structure des populations, il faut donc mesurer la différenciation entre des populations provenant de la même variété. De nouvelles collectes d'échantillons seront réalisées à Madagascar, et si possible, en France et en Espagne pour estimer la dispersion à partir de mesure de différenciation.

La structure des populations à l'échelle mondiale montre que certains groupes génétiques correspondent à une origine géographique limitée, mais que plusieurs groupes génétiques rassemblent des souches d'origines géographiques très différentes. Ces résultats semblent montrer que des migrations intercontinentales ont eu lieu. Ces migrations sont probablement le résultat de transports de matériels infectés (semences). Certaines de ces migrations sont probablement récentes (40 ans, Révolution verte), d'autres probablement plus anciennes (500 ans, découverte du Nouveau Monde ; 2 000 ans, culture du riz en Egypte). Nous souhaitons confirmer l'hypothèse de migrations à longue distance, identifier les routes de migrations et les dater pour mieux comprendre l'impact de ces migrations sur la structure actuelle des populations. Des méthodes d'analyse de type ABC (Approximate Bayesian Computation) seront utilisées pour tester des scénarios de migration des populations (projet ANR-Biodiversité Emerfundis). Elles seront appliquées aux données obtenues avec des marqueurs microsatellites. Pour retracer des histoires évolutives longues, ces marqueurs pourraient se révéler inadaptés, du fait de leur vitesse d'évolution élevée. Dans ce cas nous utiliserons des marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism) que nous développerons. Nous disposons d'échantillons populationnels collectés entre 1999 et 2006 pour l'Europe (5 populations), l'Amérique du Nord (2), l'Amérique du Sud (2), et l'Asie du Sud Est (2), l'Asie du Sud (8) et l'Océan Indien (3). Nous essaierons d'obtenir des populations supplémentaires dans la zone de diversité (Asie du Sud ; projet Fondation Agropolis) et en Afrique de l'Ouest.

3.2.2 Reproduction sexuée

Des événements, mêmes rares, de recombinaison peuvent avoir un effet marqué sur les combinaisons de gènes (Burt *et al.* 1996, Bengtsson 2003). Ils peuvent accélérer la dissémination rapide de virulences ou favoriser l'émergence de nouvelles combinaisons de virulences par rapport à des systèmes strictement clonaux (Awadalla 2003). *M. oryzae* se multiplie de manière clonale par la production de conidies et la structure des populations reflète ce type de multiplication dans la

plupart des pays où les populations ont été caractérisées (Cf 2.3.1). Toutefois, les résultats d'analyse des populations de *M. oryzae* dans certains pays du piémont himalayen (Inde, Népal, Sud de la Chine, Nord du Vietnam, Nord de la Thaïlande) montrent (i) une diversité plus importante, (ii) la présence des deux types sexuels et (iii) la présence de souches femelle-fertiles. Ces zones géographiques sont de bonnes candidates pour la recherche de traces de reproduction sexuée, présentes ou passées. Si cette reproduction sexuée existe, elle pourrait favoriser l'émergence de souches multivirulentes grâce à la recombinaison. Du fait de migrations à longue distance, ces événements, mêmes rares, pourraient avoir des conséquences au-delà des zones où la recombinaison se produit.

Nous souhaitons donc tester l'hypothèse de reproduction sexuée sur des populations de cette zone. Nous disposons déjà de 6 populations du Yunnan (Chine), 1 du Hunan (Chine) et 1 du nord de la Thaïlande. Les individus de 6 de ces populations ont été génotypés avec 13 marqueurs microsatellites et l'analyse de déséquilibres de liaison permet de conclure qu'il n'y pas panmixie. Mais, ces tests n'excluent pas la possibilité d'une reproduction sexuée. Nous allons donc rechercher des méthodes ou adapter des méthodes déjà existantes pour détecter la recombinaison chez des organismes haploïdes. Nous envisageons en particulier d'utiliser des méthodes basées sur des simulations. En parallèle, à travers des collaborations, d'autres populations de cette zone seront collectées (Népal, Inde,...). Le type sexuel des souches et le caractère femelle-fertile seront déterminés *in vitro* par croisement avec des testeurs. Les individus des populations présentant à la fois des souches femelle-fertiles et des souches des deux types sexuels seront génotypés avec des marqueurs microsatellites. Sur ces nouvelles populations les déséquilibres de liaison et l'existence de recombinaison seront testés. Les populations présentant des traces de recombinaison pourront être suivies dans le temps pour essayer de déterminer si la reproduction sexuée a toujours lieu. Ce sujet de recherche est une partie de la Thèse de Dounia Saleh qui a démarré le 1^{er} octobre 2008 et que je co-encadre avec Elisabeth Fournier.

3.2.3 Changement d'hôte

Les changements d'hôtes sont fréquents chez les champignons phytopathogènes (Woolhouse *et al.* 2005). Les agrosystèmes sont probablement plus favorables à ces changements d'hôtes que les écosystèmes naturels, car ils fournissent aux agents pathogènes un support relativement homogène génétiquement et relativement dense sur de grandes surfaces (Stukenbrock et McDonald 2008). L'espèce *M. oryzae* comporte plusieurs groupes génétiques isolés et pathogènes chacun d'un nombre limité d'espèces de plantes. Les changements d'hôtes de *M. oryzae* n'ont été que peu étudiés. Couch *et al.* (2005) font l'hypothèse d'une origine unique des souches de *M. oryzae* pathogènes du riz à partir des souches pathogènes sur les sétaires. Mais, ces conclusions reposent

sur des résultats obtenus avec peu de marqueurs polymorphes, sur un échantillon de souches qui nous paraît trop limité et peu représentatif des populations de l'agent pathogène. Y aurait-il eu plusieurs sauts de *M. oryzae* des sétaires vers le riz et ces sauts peuvent-ils se reproduire ? En particulier, y a-t-il eu deux sauts d'hôte indépendants de la sétairie vers les riz indica et japonica où un saut d'hôte vers le riz japonica puis une spécialisation sur l'indica. Nous souhaitons donc faire des expérimentations complémentaires pour tester l'hypothèse d'une origine unique. Pour ce faire, nous développerons des marqueurs SNP et nous caractériserons des souches de *M. oryzae* pathogènes de sétaires et de riz. Les souches « riz » seront choisies pour représenter les différents groupes génétiques déjà mis en évidence avec des marqueurs microsatellites. L'échantillon de souches de sétaires sera constitué à partir des souches en collection dans différents pays. L'objectif sera de maximiser les origines géographiques pour maximiser la diversité. Des collectes de nouvelles souches seront réalisées en collaboration, en particulier dans la zone d'origine présumée des souches « riz » (centre de diversité ; projet Agropolis Fondation). Un effort particulier sera fait pour échantillonner sur des variétés traditionnelles de riz cultivées dans des systèmes pluviaux. En effet, nous faisons l'hypothèse que la culture à grande échelle de variétés améliorées indica en irrigué a conduit à une réduction de la diversité et à une perte de la reproduction sexuée. L'existence de la reproduction sexuée chez les souches de sétaires sera testée par des tests de déséquilibre de liaison et des tests de recombinaison. Ce projet de recherche est également une partie de la thèse de Dounia Saleh.

3.2.4 Adaptation locale

Les études que nous avons menées sur *ACE1* montrent l'importance des introductions de souches virulentes dans le contournement des résistances. Mais des adaptations locales sont également possibles. L'importance des adaptations locales dans les interactions hôtes x parasites a été démontrée pour de nombreux couples (revue par Kaltz et Shykoff 1998). Des exemples existent pour des couples plantes / champignons phytopathogènes dans des écosystèmes sauvages (Thrall et Burdon 2002, Capelle et Neema 2005, Laine 2005, Sicard *et al.* 2007...) mais peu dans les agrosystèmes (peut être un exemple dans le système blé / *Septoria tritici* ; Ahmed *et al.* 1995). Nous souhaitons mettre en évidence de telles adaptations à partir d'un exemple chez le coupe riz / *M. oryzae*.

A Madagascar, la riziculture pluviale a été développée récemment dans la zone des Hauts Plateaux. Des variétés adaptées, issues de croisements entre des variétés pluviales tropicales et des variétés locales irriguées et tolérantes au froid, ont été diffusées au milieu des années 90. Assez rapidement ces nouvelles variétés se sont révélées sensibles à la pyriculariose. Les études de spectre de virulence des souches de *M. oryzae* de Madagascar montrent que les souches collectées sur des

variétés irriguées n'attaquent pas les variétés pluviales. Par ailleurs, les populations de *M. oryzae* de Madagascar sur riz pluvial et sur riz irrigué sont suffisamment proches génétiquement pour exclure l'hypothèse d'une introduction extérieure (par les semences par exemple). Les introductions sont d'ailleurs limitées par l'insularité et par les mesures de quarantaine. Nous envisageons donc deux hypothèses : 1) une migration longue distance à partir de populations sur culture pluviale déjà présentes à Madagascar dans d'autres régions 2) une adaptation des souches « irriguées » locales sur les variétés pluviales. Nous disposons d'échantillons de *M. oryzae* des Hauts plateaux pour les années 1995, 2001, 2003, 2005 et 2006 sur des riz irrigués et pluviaux. Des collectes d'échantillons sur cultures pluviales dans d'autres régions de Madagascar sont à réaliser. L'évolution de la diversité génétique au cours du temps sera évaluée avec des marqueurs microsatellites. Les populations collectées sur cultures pluviales et irriguées dans la région des Hauts plateaux seront comparées entre elles et avec les populations collectées sur cultures pluviales dans d'autres régions de Madagascar. L'évolution du spectre de virulence au cours du temps et en fonction des variétés d'origine (irriguées et pluviales) sera testée pour quelques souches de chacune des populations. Nous pourrions en particulier réaliser des tests d'inoculations croisés pour déterminer si l'adaptation a été accompagnée d'une spécialisation et d'une perte de fitness. Ces analyses auront pour objectif de répondre aux questions suivantes : Y a-t-il eu adaptation locale ? Si oui, l'adaptation a-t-elle été rapide ou progressive ? A-t-elle été accompagnée d'un fort goulot d'étranglement puis d'une phase d'expansion ?

3.2.5 Evolution de l'agressivité

L'agressivité d'un agent pathogène peut se définir par la quantité de dommages infligée à l'hôte. Cette quantité de dommages dépend pour une part d'interactions spécifiques qualitatives, répondant à la théorie gène-pour-gène, qui sont les mieux caractérisées. L'étude de ce type d'interaction prend *de facto* en compte la variabilité des génotypes hôtes et des génotypes parasites, puisque le pouvoir pathogène de l'agent pathogène dépend de la compatibilité des allèles aux locus d'avirulence et de résistance en correspondance. Par contre, dans les interactions plantes x microorganismes pathogènes, très peu de travaux intégrant les interactions génotypes x génotypes ont porté sur l'agressivité, qui est la composante qualitative du pouvoir pathogène, et qui correspond à la réponse du parasite aux résistances partielles des hôtes (Salvaudon *et al.* 2007 ; Pariaud *et al.* soumis). En particulier, les bases génétiques de l'agressivité sont à ce jour encore largement inconnues pour de nombreux agents pathogènes de plantes, en particulier pour les champignons. Pourtant, le déterminisme génétique de l'agressivité d'un agent pathogène définit en partie ses possibilités d'adaptation. *M. oryzae* présente des niveaux d'agressivité variables en fonction des résistances partielles des cultivars utilisés. La reproduction sexuée de *M. oryzae* est

maîtrisée *in vitro* et permet de réaliser des études génétiques. Nous utiliserons donc cette espèce modèle pour (i) rechercher les traits adaptatifs impliqués dans l'agressivité en prenant en compte les interactions entre génotypes de l'hôte et génotypes de l'agent pathogène, (ii) étudier les corrélations entre traits et (iii) rechercher les bases génétiques de ces traits. Notre démarche consistera à réaliser des inoculations de cultivars de riz différents pour leurs niveaux de résistance partielle, avec des génotypes de champignons différents pour leur agressivité. Nous identifierons et mesurerons les principaux traits qui composent l'agressivité. Nous rechercherons les corrélations génétiques entre ces traits. Nous utiliserons la cartographie QTL pour localiser les zones du génome responsables des principaux traits. Enfin, nous testerons la colocalisation avec des gènes du pouvoir pathogène dont le rôle aura été démontré dans l'équipe Interactions riz-parasites ou dans d'autres équipes.

3.3 Conclusions

Les activités de caractérisation génétique et moléculaire de l'interaction *Pi33/ACE1* vont être poursuivies. Dès que le gène sera cloné, des perspectives de recherche nouvelles s'ouvriront qui pourront faire l'objet de sujets de Master et de Thèse. Toutefois, c'est sur les activités de génétique des populations de *M. oryzae* que j'oriente mes activités de recherche. Cette orientation est possible par l'arrivée récente de trois chercheurs permanents travaillant sur l'interaction riz/*M. oryzae* et par le renforcement des compétences de l'unité en génétique des populations de champignons phytopathogènes, en particulier sur la modélisation. Ces compétences permettront à la fois de répondre spécifiquement à des questions qui se posent sur le pathosystème riz/*M. oryzae* mais aussi d'utiliser ce pathosystème comme modèle pour répondre à des questions plus générales. La diversité des modèles biologiques travaillés au sein de l'UMR BGPI sera exploitée de manière complémentaire. En particulier, nous envisageons de proposer des sujets de Master en 2009 et de Thèse en 2010 qui ne seront pas centrés sur un modèle biologique mais sur des questions plus génériques de génétique des populations des champignons phytopathogènes.

Références bibliographiques

- Ahmed HU, Mundt CC, Coakley SM. 1995 Host-pathogen relationship of geographically diverse isolates of *Septoria tritici* and wheat cultivars. *Plant Pathology* 44:838-847.
- Anderson PK, Cunningham AA, Patel NG, Morales FJ, Epstein PR, Daszak P. 2004. Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. *Trends Ecol. Evol.* 19:535-544.
- Awadalla P. 2003. The evolutionary genomics of pathogen recombination. *Nat. Rev. Genet.* 4:50-60.
- Ballini E. 2008. Etude des interactions riz-*Magnaporthe oryzae*. Diversité, origine et évolution du locus de résistance *Pi33*. Thèse de Doctorat du Centre d'Etudes Supérieures en Sciences Agronomiques de Montpellier. pp308.
- Ballini E, Berruyer R, Morel JB, Lebrun MH, Nottéghem JL, Tharreau D. 2007. Modern elite rice varieties of the Green Revolution have retained a large introgression from wild rice around the *Pi33* rice blast resistance locus. *New Phytologist* 175:340-350.

- Bengtsson BO. 2003. Genetic variation in organisms with sexual and asexual reproduction. *J. Evol. Biol.* 16:189-199.
- Bent AF, Mackey D. 2007. Elicitors, effectors, and R genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annu. Rev. Phytopathol.* 45:399-436.
- Berruyer R, Adreit H, Milazzo J, Gaillard S, Berger A, Dioh W, Lebrun M.-H, Tharreau D. 2003. Identification and fine mapping of *Pi33*, the rice resistance gene corresponding to the *Magnaporthe grisea* avirulence gene *ACE1*. *Theoretical and Applied Genetics* 107(6):1139-1147.
- Böhnert HU, Fudal I, Dioh W, Tharreau D, Nottéghem JL, Lebrun MH. 2004. A putative Polyketide Synthase/Peptide Synthetase from *Magnaporthe grisea* signals pathogen attack to resistant rice. *The Plant Cell* 16:2499-2513.
- Bouet A, Milazzo J, Adreit H, Nottéghem JL, Tharreau D. 2002. Mise en évidence de races et de lignées clonales dans la population de *Magnaporthe grisea* en Côte d'Ivoire. *Agronomie africaine* 14(1):51-69.
- Burt A, Carter DA, Koenig GL, White TJ, Taylor JW. 1996. Molecular markers reveal cryptic sex in the human pathogen *Coccidioides immitis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:770-773.
- Brygoo Y, Caffier V, Carlier J, Fabre J-V, Fernandez D, Giraud T, Mourichon X, Neema C, Nottéghem J-L, Pope C, Tharreau D, Lebrun M-H. 1998. Reproduction and population structure in phytopathogenic fungi. In *Molecular variability of fungal pathogens*. P.D. Bridge, Y. Couteaudier, J.M. Clarkson (ed). CAB International, Wallingford, Grande Bretagne : 133-148.
- Capelle J, Neema C. 2005. Local adaptation and population structure at a micro-geographical scale of a fungal parasite on its host plant. *J. Evol. Biol.* 18:1445-1454.
- Carlier J, Tharreau D. 2003. Etude de la structure des populations de *Mycosphaerella fijiensis* (maladie des raies noires du bananier) et de *Magnaporthe grisea* (pyriculariose du riz) en relation avec la gestion des résistances à ces maladies. In *Phytopathologie*. P. Lepoivre (ed). De Boeck, Bruxelles, Belgique : 138-141.
- Catanzariti AM, Dodds PN, Lawrence GJ, Ayliffe MA, Ellis JG. 2006. Haustorially expressed secreted proteins from flax rust are highly enriched for avirulence elicitors. *Plant Cell* 18: 243-256.
- Collemare J. 2007. Communication entre les plantes et leurs agents pathogènes : rôle des métabolites secondaires dans la reconnaissance du champignon *Magnaporthe grisea* par le riz. Thèse de doctorat en Sciences de l'Université Paris XI 219 pp.
- Collemare J, Pianfetti M, Houille AE, Morin D, Camborde L, Gagey MJ, Barbisan C, Fudal I, Lebrun MH, Böhnert HU. 2008a. *Magnaporthe grisea* avirulence gene *ACE1* belongs to an infection-specific gene cluster involved in secondary metabolism. *New Phytologist* 179:196-208.
- Collemare J, Billard A, Böhnert HU, Lebrun MH. 2008b. Biosynthesis of secondary metabolites in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*: the role of hybrid PKS-NRPS in pathogenicity. *Mycol Res.* 112:207-215.
- Couch BC, Fudal I, Lebrun MH, Tharreau D, Valent B, van Kim P, Nottéghem JL, Kohn LM. 2005. Origins of host-specific populations of the blast pathogen, *Magnaporthe grisea*, in crop domestication with subsequent expansion of pandemic clones on rice and weeds of rice. *Genetics* 170(2):613-630.
- Dean RA, Talbot NJ, Ebbole DJ, Farman ML, Mitchell TK, Orbach MJ, Thon M, Kulkarni R, Xu JR, Pan H, Read ND, Lee YH, Carbone I, Brown D, Oh YY, Donofrio N, Jeong JS, Soanes DM, Djonovic S, Kolomiets E, Rehmeier C, Li W, Harding M, Kim S, Lebrun MH, Bohnert H, Coughlan S, Butler J, Calvo S, Ma LJ, Nicol R, Purcell S, Nusbaum C, Galagan JE, Birren BW. 2005. The genome sequence of the rice blast fungus. *Nature* 43412:980-986.
- Delmotte F, Giresse X, Richard-Cervera S, M'baya J, Vear F, Tourvieille J, Walser P, Labrouhe DT. 2008. Single nucleotide polymorphisms reveal multiple introductions into France of *Plasmopara halstedii*, the plant pathogen causing sunflower downy mildew. *Infect Genet Evol.* 8(5):534-540.
- De Witt PJGM. 1992. Molecular characterization of gene systems in plant fungus interactions and the application of avirulence genes in control of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 30: 391-402.
- Dioh W, Tharreau D, Lebrun M-H. 1997. RAPD-based screening of genomic libraries for positional cloning. *Nucleic Acids Research* 25:5130-5131.
- Dioh W, Tharreau D, Nottéghem J-L., Orbach MJ, Lebrun M-H. 2000. Mapping of Avirulence Genes in the Rice Blast Fungus, *Magnaporthe grisea*, with RFLP and RAPD Markers. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13:217-227.
- Dodds PN, Lawrence GJ, Catanzariti A-M, Ayliffe MA, and Ellis JG. 2004. The *Melampsora lini* AvrL567 avirulence genes are expressed in haustoria and their products are recognized inside plant cells. *Plant Cell* 16:755-768.

- El Guilli M, Ouassou A, Adreit H, Milazzo J, Notteghem JL, Tharreau D. 2005. Caractérisation de la diversité génétique des isolats marocains de *Magnaporthe grisea* par des marqueurs RAPD et SCAR. *Al Awamia* 2(1):105-116.
- Emerson BC, Hewitt GM. 2005. Phylogeography. *Current Biology* 15: 367-371.
- Excoffier L. 2004. Special issue: analytical methods in phylogeography and genetic structure. *Mol. Ecol.* 13:727.
- Farman ML, Leong SA. 1998. Chromosome walking to the *AVR1-CO39* avirulence gene of *Magnaporthe grisea*: Discrepancy between the physical and genetic maps. *Genetics* 150:1049-1058.
- Farman ML, Eto Y, Nakao T, Tosa Y, Nakayashiki H, Mayama S, Leong SA. 2002. Analysis of the structure of the *AVR1-CO39* avirulence locus in virulent rice-infecting isolates of *Magnaporthe grisea*. *Mol Plant Microbe Interact.* 15(1):6-16.
- Fudal I, Collemare J, Böhnert HU, Melayah D, Lebrun MH. 2007. Expression of *Magnaporthe grisea* avirulence gene *ACE1* is connected to the initiation of appressorium-mediated penetration. *Eukaryotic Cell* 6(3):546-554.
- Gladieux P, Zhang XG, Afoufa-Bastien D, Valdebenito Sanhueza RM, Sbaghi M, Le Cam B. 2008. On the origin and spread of the Scab disease of apple: out of central Asia. *PLoS ONE* 3(1):e1455.
- Gobbin D, Rumbou A, Linde C, Gessler C. 2006. Population genetic structure of *Plasmopara viticola* after 125 years of colonization in European vineyards. *Mol. Plant Pathol.* 7: 519-531.
- Goff SA, Ricke D, Lan TH, Presting G, Wang R, Dunn M, Glazebrook J, Sessions A, Oeller P, Varma H, Hadley D, Hutchison D, Martin C, Katagiri F, Lange BM, Moughamer T, Xia Y, Budworth P, Zhong J, Miguel T, Paszkowski U, Zhang S, Colbert M, Sun WL, Chen L, Cooper B, Park S, Wood TC, Mao L, Quail P, Wing R, Dean R, Yu Y, Zharkikh A, Shen R, Sahasrabudhe S, Thomas A, Cannings R, Gutin A, Pruss D, Reid J, Tavtigian S, Mitchell J, Eldredge G, Scholl T, Miller RM, Bhatnagar S, Adey N, Rubano T, Tusneem N, Robinson R, Feldhaus J, Macalima T, Oliphant A, Briggs S. 2002. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science* 296(5565):92-100.
- Gout L, Fudal I, Kuhn ML, Blaise F, Eckert M, Cattolico L, Balesdent MH, Rouxel T. 2006. Lost in the middle of nowhere: the *AvrLml* avirulence gene of the Dothideomycete *Leptosphaeria maculans*. *Mol. Microbiol.* 60(1):67-80.
- Gout L, Kuhn ML, Vincenot L, Bernard-Samain S, Cattolico L, Barbetti M, Moreno-Rico O, Balesdent MH, Rouxel T. 2007. Genome structure impacts molecular evolution at the *AvrLml* avirulence locus of the plant pathogen *Leptosphaeria maculans*. *Environ Microbiol.* 9(12):2978-2992.
- Guérin F, Gladieux P, Le Cam B. 2007. Origin and colonization history of newly virulent strains of the phytopathogenic fungus *Venturia inaequalis*. *Fungal Genet. Biol.* 2007 44(4):284-292.
- Hofius D, Tsitsigiannis DI, Jones JD, Mundy J. 2007 Inducible cell death in plant immunity. *Seminar in Cancer Biology* 17(2):166-187.
- Houterman PM, Cornelissen BJ, Rep M. 2008. Suppression of plant resistance gene-based immunity by a fungal effector. *PLoS Pathog.* 4(5).
- Huang YJ, Li ZQ, Evans N, Rouxel T, Fitt BDL, Balesdent MH. 2006. Fitness cost associated with loss of the *AvrLm4* avirulence function in *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker of oilseed rape). *European Journal of Plant Pathology* 114: 77-89
- Jones JD, Dangl JL. 2007. The plant immune system. *Nature* 444(7117):323-329.
- Joosten MH, Vogelsang R, Cozijnsen TJ, Verberne MC, De Wit PJ 1997. The biotrophic fungus *Cladosporium fulvum* circumvents Cf-4-mediated resistance by producing unstable AVR4 elicitors. *Plant Cell* 9:367-379.
- Jorge V. 1998. Analyse génétique de la structure des populations européennes de *Magnaporthe grisea*. Mémoire de DEA de Phytopathologie, Universités Paris VI, Paris XI et INA-PG. 30pp.
- Kaltz O, Shykoff JA. 1998. Local adaptation in host-parasite systems. *Heredity* 81: 361-370.
- Kang S, Sweigard JA, Valent B. 1995. The *PWL* host specificity gene family in the blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 8(6):939-48.
- Kang S, Lebrun MH, Farrall L, Valent B. 2001. Gain of virulence caused by insertion of a *Pot3* transposon in a *Magnaporthe grisea* avirulence gene. *Mol Plant Microbe Interact* 14:671-674.
- Kaye C, Milazzo J, Rozenfeld S, Lebrun MH, Tharreau D. 2003. The Development of Simple Sequence Repeat (SSR) Markers for *Magnaporthe grisea* and Their Integration into an Established Genetic Linkage Map. *Fungal Genetics and Biology* 40(3):207-214.
- Laine AL. 2005. Spatial scale of local adaptation in a plant-pathogen metapopulation. *J. Evol. Biol.* 18:930-938.

- Lockwood JL, Cassey P, Blackburn T. 2005. The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends Ecol. Evol.* 20: 223-228.
- Luderer R, Takken FL, de Wit PJ, Joosten MH. 2002. *Cladosporium fulvum* overcomes Cf-2-mediated resistance by producing truncated AVR2 elicitor proteins. *Mol Microbiol* 45:875-884.
- Martin GB, Bogdanove AJ, Sessa G. 2003. Understanding the functions of plant disease resistance proteins. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54:23-61.
- McDonald BA, Linde C. 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:349-379.
- Michelmore RW, Meyers BC. 1998. Clusters of resistance genes in plants evolve by divergent selection and a birth-and-death process. *Genome Res.* 8(11):1113-1130.
- Morgan W, Kamoun S. 2007. RXLR effectors of plant pathogenic oomycetes. *Curr. Opin. Microbiol.* 10(4):332-338.
- Orbach MJ, Farrall L, Sweigard JA, Chumley FG, Valent B. 2000. A telomeric avirulence gene determines efficacy for the rice blast resistance gene *Pi-ta*. *Plant Cell* 12:2019-2032.
- Peever TL, Ibanez A, Akimitsu K, Timmer LW. 2002. Worldwide Phylogeography of the Citrus Brown Spot Pathogen, *Alternaria alternata*. *Phytopathology* 92: 794-802.
- Rep M, van der Does HC, Meijer M, van Wijk R, Houterman PM, Dekker HL, de Koster CG, Cornelissen BJ. 2004. A small, cysteine-rich protein secreted by *Fusarium oxysporum* during colonization of xylem vessels is required for I-3-mediated resistance in tomato. *Mol Microbiol.* 53(5):1373-1383.
- Raboin LM, Athiappan S, Miranda Oliveira, K, Paulet F, Calatayud C, Zapater MF, Brottier P, Luzaran R, Garsmeur O, Carlier J, D'Hont A. 2006. Evidence for the dispersal of a unique lineage from Asia to America and Africa in the sugarcane fungal pathogen *Ustilago scitaminea*. *Fungal Genet. Biol.* 44: 64-76.
- Ridout CJ, Skamnioti P, Porritt O, Sacristan S, Jones JD, Brown JK. 2006. Multiple avirulence paralogues in cereal powdery mildew fungi may contribute to parasite fitness and defeat of plant resistance. *Plant Cell.* 18(9):2402-2414.
- Rivas GG, Zapater MF, Abadie C, Carlier J. 2004. Founder effects and stochastic dispersal at the continental scale of the fungal pathogen of bananas *Mycosphaerella fijiensis*. *Mol. Ecol.* 13: 471-482.
- Roumen E, Levy M, Nottéghem JL. 1997. Characterization of the European pathogen population of *Magnaporthe grisea* by DNA fingerprinting and pathotype analysis. *European Journal of Plant Pathology* 103:363-371.
- Salvaudon L, Héraudet V, Shykoff JA. 2007. Genotype-specific interactions and the trade-off between host and parasite fitness. *BMC Evol. Biol.* 7:189.
- Schurch S, Linde CC, Knogge W, Jackson LF, McDonald BA. 2004. Molecular population genetic analysis differentiates two virulence mechanisms of the fungal avirulence gene *NIP1*. *Mol Plant Microbe Interact.* 17:1114-1125.
- Shabab M, Shindo T, Gu C, Kaschani F, Pansuriya T, Chintha R, Harzen A, Colby T, Kamoun S, van der Hoorn RA. Fungal effector protein AVR2 targets diversifying defense-related cysteine proteases of tomato. *Plant Cell* 2008 20(4):1169-1183.
- Sicard D, Pennings PS, Grandclément C, Acosta J, Kaltz O, Shykoff JA. 2007. Specialization and local adaptation of a fungal parasite on two host plant species as revealed by two fitness traits. *Evolution* 61(1):27-41.
- Silué D, Nottéghem J-L, Tharreau D. 1992a. Evidence of a gene-for-gene relationship in the *Oryza sativa*-*Magnaporthe grisea* pathosystem. *Phytopathology* 82(5): 577-580.
- Silué D, Tharreau D Nottéghem J-L. 1992b. Identification of *Magnaporthe grisea* avirulence genes to seven rice cultivars. *Phytopathology* 82(12): 1462-1467.
- Song WY, Pi LY, Wang GL, Gardner J, Holsten T, Ronald PC. 1997. Evolution of the rice *Xa21* disease resistance gene family. *Plant Cell* 9(8):1279-1287.
- Soubabère O, Dioh W, Lebrun M-H., Nottéghem J-L, Tharreau D. 2000 Comparative continental variation of the rice blast fungus using Sequence Characterized Amplified Region markers. In Advances in Rice Blast Research. Proceedings of the 2nd International Rice Blast Conference. 4-7 August 1998, Montpellier, France. D. Tharreau, M.H. Lebrun, N.J. Talbot, J.L. Nottéghem (ed). Kluwer Academic Press : 209-213.
- Soubabère O, Jorge V, Nottéghem J-L, Lebrun M-H., Tharreau D. 2001. Sequence Characterized amplified region markers for the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*. *Molecular Ecology Notes* 1:19-21.

- Stergiopoulos I, De Kock MJ, Lindhout P, De Wit PJ. 2007. Allelic variation in the effector genes of the tomato pathogen *Cladosporium fulvum* reveals different modes of adaptive evolution. *Mol Plant-Microbe Interact.* 20(10):1271-83.
- Stukenbrock EH, Banke S, McDonald BA. 2006. Global migration patterns in the fungal wheat pathogen *Phaeosphaeria nodorum*. *Mol. Ecol.* 15(10):2895-2904.
- Stukenbrock EH, Banke S, Javan-Nikkhah M, McDonald BA. 2007. Origin and domestication of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* via sympatric speciation. *Mol. Biol. Evol.* 24(2):398-411.
- Stukenbrock EH, McDonald BA. 2008. The origins of plant pathogens in agro-ecosystems. *Annu. Rev. Phytopathol.* 46:75-100.
- Sweigard JA, Carroll AM, Kang S, Farrall L, Chumley FG, Valent B. 1995. Identification, cloning, and characterization of PWL2, a gene for host species specificity in the rice blast fungus. *Plant Cell* 7(8):1221-33.
- Tharreau D, Fudal I, Andriantsimialona D, Santoso, Utami D, Fournier E, Lebrun M-H, Nottéghem J-L. World population structure and migration of the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*. *In Proceedings of the 4th International Rice Blast Conference*, Changsha, Chine, Octobre 9-14 2007. In press.
- Thrall PH, Burdon JJ, Bever JD. 2002. Local adaptation in the *Linum marginale*-*Melampsora lini* host-pathogen interaction. *Evolution* 56:1340-1351.
- Thrall PH, Burdon JJ. 2003. Evolution of virulence in a plant host-pathogen metapopulation. *Science*. 299(5613):1735-1737.
- Valent B. 1990. Rice blast as a model system for plant pathology. *Phytopathology* 80(1): 33-36.
- van Esse HP, Bolton MD, Stergiopoulos I, de Wit PJ, Thomma BP. 2007. The chitin-binding *Cladosporium fulvum* effector protein Avr4 is a virulence factor. *Mol Plant-Microbe Interact.* 20(9):1092-1101.
- Veneault-Fourrey C, Talbot N. 2005. Moving toward a systems biology approach to the study of fungal pathogenesis in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Adv. Appl. Microbiol.* 57:177-215.
- Wang YL, Kaye C, Bordat A, Adreit H, Milazzo J, Zheng XB, Shen Y, Tharreau D. 2005. Construction of a linkage map and location of avirulence genes from the cross CH63 and TH16 of *Magnaporthe grisea*. *Chinese Journal of Rice Science* 19(2):160:166 (en chinois, résumé en anglais).
- Westerink N, Brandwagt BF, de Wit PJ, Joosten MH. 2004. *Cladosporium fulvum* circumvents the second functional resistance gene homologue at the *Cf-4* locus (Hcr9-4E) by secretion of a stable avr4E isoform. *Mol Microbiol.* 54(2):533-45.
- White FF, Yang B, Johnson LB. 2000. Prospects for understanding avirulence gene function. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3(4):291-298.
- Woolhouse ME, Haydon DT, Antia R. 2005. Emerging pathogens: the epidemiology and evolution of species jumps. *Trends Ecol. Evol.* 20(5):238-244.
- Zhou B, Dolan M, Sakai H, Wang GL. 2007. The genomic dynamics and evolutionary mechanism of the *Pi2/9* locus in rice. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 20(1):63-71.

4. Encadrement et formation

Mon activité de formation se caractérise par une **activité d'enseignement** de quelques heures par an dispensées à différentes formations de niveau DEA, DAA et maintenant Master II à Montpellier et à Paris et par l'**encadrement de nombreux étudiants** et collègues étrangers. Au cours de ces 10 dernières années, j'ai encadré et formé 30 étudiants et collègues pour des périodes de 2 semaines à 40 mois et pour un total estimé à plus de 250 mois. Dans la liste qui suit on peut surtout mettre en avant l'encadrement de **7 étudiants de DEA, DESS ou Master**, le co-encadrement de **3 étudiants en thèses** inscrits en France (deux thèses soutenues + une thèse qui démarre), **2 étudiants en thèses inscrits à l'étranger** (thèses soutenues) et **2 chercheurs confirmés inscrits en thèse à l'étranger** (une thèse soutenue + une thèse en cours).

Formation des partenaires : 12 personnes, au moins 52 mois.

- A. Bouet, **chercheur** phytopathologiste au CNRA de Côte d'Ivoire. Réalisation de tests de pouvoir pathogènes de souches de *M. grisea* (champignon responsable de la pyriculariose) ivoiriennes. **3 mois**.
- M. El Guilli, **chercheur** phytopathologiste à l'INRA du Maroc. Caractérisation des populations de *M. grisea* du Maroc à l'aide de marqueurs moléculaires et de tests de pouvoir pathogène. **1 mois 1/2 + 1 mois 1/2 + 2 semaines**.
- A. Jirifi, **technicien** à l'INRA du Maroc (collègue de M. El Guilli). Même sujet que M. El Guilli. **1 mois 1/2 + 1 mois 1/2**.
- Xudong Zhu, **chercheur** sélectionneur au CNRRI à Hangzhou (partenaire du projet RESIDIV). Génétique de la résistance à la pyriculariose. **2 mois**.
- Ying Shen, **chercheur** phytopathologiste au CNRRI à Hangzhou (partenaire du projet RESIDIV). Génétique classique de l'aviorulence de *Magnaporthe grisea* et Analyse génétique des populations et recherche de la reproduction sexuée de *M. grisea*, agent de la pyriculariose du riz en Chine. **3 + 2 + 2 + 3 + 4 mois**.
- Alain Ramanantsoanirina, **chercheur** sélectionneur au FOFIFA à Anstirabe (accueil DESI). Marqueurs moléculaires pour la sélection. **1,5 mois**. Coencadrement avec Nour Ahmadi.
- Huy Chung Nguyen, **chercheur** phytopathologiste au VASI à Hanoï (accueil DESI). Caractérisation des populations de *M. grisea* et évaluation de la résistance du riz à la pyriculariose. **1,5 mois**. Coencadrement avec Nour Ahmadi.
- Chengyun Li, **chercheur** phytopathologiste au YAAS à Kunming (Bourse d'accueil chercheur confirmé). Cartographie de gène d'aviorulence de *Magnaporthe grisea* et caractérisation des populations de *Magnaporthe grisea* du Yunnan. **4 + 6 mois**.
- Mercedes Castejon-Munoz, **chercheur** au CIFA (Séville, Espagne). Analyse moléculaire des populations de *M. grisea* d'Espagne. **2 semaines**.
- Suchada Mogolsamrit, étudiante en **maîtrise** au Biotec à Bangkok. Caractérisation des populations de *Magnaporthe grisea* de Thaïlande et recherche de marqueurs liés à des gènes d'aviorulence. **2 mois**.
- Alison McIntosh, **technicienne** à l'Université d'Aberdeen (partenaire du projet RESIDIV). Formation aux techniques de microbiologie et d'évaluation du pouvoir pathogène de *Magnaporthe grisea*. **2 semaines**.
- Peng Xu, **chercheur** sélectionneur au YAAS à Kunming (Yunnan, Chine). Formation aux techniques d'évaluation de la résistance du riz à la pyriculariose. **5 mois**.

Formations diplômantes : 9 étudiants, 66 mois.

- V. Jorge. DEA Phytopathologie, INA-PG/Université Paris VI/Université d'Orsay. Analyse génétique de la structure des populations européennes de *Magnaporthe oryzae*. **7 mois**.
- O. Soubabère. DESS Biotechnologies des Champignons, Université Bordeaux II. Développement et utilisation de marqueurs SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) pour l'analyse des populations de *M. oryzae*. **7 mois**.

- L. Rouveure. **Maîtrise de Sciences et Techniques** en Chimie et Biologie Végétale, Université Lyon I. Vérification de l'étiquetage de gènes impliqués dans le pouvoir pathogène de *M. oryzae* par mutagenèse insertionnelle. **3 mois.**
- R. Habas. **BTS.** Suivi épidémiologique des maladies du riz en Camargue. **7 mois.**
- Michael Chopin, **DEA** Ressources Phytogénétiques et interactions biologiques, Agro Montpellier/Université Montpellier II. Expression du génome du riz : cas des gènes induits lors de l'attaque par le champignon phytopathogène *Magnaporthe oryzae*. **6 mois** (co-encadrement avec Thierry Legavre, CIRAD).
- Sylvain Gaillard, **maîtrise** de Physiologie végétale appliquée, Université Montpellier II. Contribution à la caractérisation du gène *Pi-11(t)* de résistance du riz à la pyriculariose. **6 mois.**
- Amandine Bordat, **maîtrise.** Développement de marqueurs microsatellite et construction de carte génétiques de *Magnaporthe oryzae*. **14 mois.**
- B. Siddi-Mammar, **Master Pro II** Bioingénierie parcours Biotechnologies Végétales, Université Paul Sabatier, Toulouse. Caractérisation des profils d'expression des gènes de signalisation dans différentes interactions entre le riz et le champignon phytopathogène *Magnaporthe oryzae*. **8 mois.**
- C. Zini, **Master Pro II** Génomique et technologies avancées des plantes. Université Perpignan/Université Montpellier II/Montpellier SupAgro. Contribution au clonage de *Pi33*. **8 mois.**

Co-Encadrement de thèses

Etudiants Français (inscrits en France) : 3 étudiants, 88 mois.

- Douniah Saleh. Université Montpellier II. Influence de la domestication du riz sur l'évolution des populations de son principal agent pathogène fongique, *Magnaporthe oryzae*. Thèse démarrée au 1^{er} Octobre 2008. Co-encadrement avec E Fournier (co-directeur).
- Elsa Ballini. Agro Montpellier/Université Montpellier II. Structure, diversité, et expression des gènes impliqués dans la résistance spécifique et la transduction du signal dans l'interaction entre le gène de résistance spécifique *Pi33* du riz et le gène d'avirulence *ACE1* de *Magnaporthe grisea*. Thèse soutenue le 17 décembre 2007. Mention très honorable avec félicitations orales du jury. Co-encadrement avec J-L Nottéghem (directeur).
- Romain Berruyer. Agro Montpellier/Université Montpellier II. Etude des interactions moléculaires Riz - *Magnaporthe grisea*: Clonage et fonction du gène de résistance *Pi-33*. Thèse soutenue le 25 février 2003. Mention très honorable avec félicitations du jury. Co-encadrement avec J-L Nottéghem (directeur).

Etudiants étrangers (inscrits à l'étranger) : 2 étudiants, 21 mois d'accueil.

- Yanli Wang, étudiante en thèse au CNRRI à Hangzhou (partenaire du projet RESIDIV). Génétique classique et moléculaire de l'avirulence de *Magnaporthe grisea*. Thèse obtenue en 2004, Université de Nanjing, Chine. **15 mois d'accueil sur 3 années.** Co-encadrement, thèse navette.
- Tanee Sreewongchai, étudiant en thèse à Biotec à Bangkok. Génétique classique et moléculaire de l'avirulence de *Magnaporthe grisea*. **6 mois d'accueil sur 2 années.** Co-encadrement, thèse navette. Thèse obtenue en 2008. Université de Kasetsart, Thaïlande.

Collègues étrangers en formation continue pour l'obtention de la thèse (inscrits à l'étranger) : 2 collègues, 20 mois d'accueil.

- Alphonse Bouet, **chercheur** au CNRA (Côte d'Ivoire), Formation aux techniques de microbiologie et d'évaluation du pouvoir pathogène de *Magnaporthe grisea*. **3.5 mois en 3 ans.** Université d'Abidjan, Côte d'Ivoire. Thèse obtenue le 24 mai 2008.
- Dodelys Andriantsimialona, **chercheur** phytopathologiste au FOFIFA à Anstirabe. Caractérisation des populations de *M. grisea* et évaluation de la résistance du riz à la pyriculariose. **16,5 mois d'accueil en 5 ans.** Université d'Antananarivo, Madagascar.

5. Synthèse des publications

Depuis 1992 :

- 29 publications dans des revues de rang A,
- 15 articles dans des revues avec comité de lecture mais sans facteur d'impact connu,
- 4 articles dans des revues sans comité de lecture,
- éditeur scientifique d'un ouvrage à la suite d'un congrès international,
- 11 articles dans des Comptes-rendus de congrès publiés sous forme d'ouvrage
- 4 articles dans des ouvrages dont 1 dans un ouvrage destiné aux étudiants (Phytopathologie, P. Lepoivre Ed.)

La liste détaillée figure dans l'annexe 1.

Revue	Nombre d'articles	Facteur d'impact 2007
<i>The Plant Cell</i>	1	9.65
<i>Proceedings of the National Academy of Sciences USA</i>	1	9.60
<i>Nucleic Acids Research</i>	1	6.95
<i>New Phytologist</i>	4	5.25
<i>Molecular Plant-Microbe Interactions</i>	4	4.28
<i>BMC Genomics</i>	1	4.18
<i>Genetics</i>	1	4.00
<i>Plant Molecular Biology</i>	2	3.85
<i>Fungal Genetics and Biology</i>	4	3.43
<i>Eukaryotic Cell</i>	1	3.40
<i>Theoretical and Applied Genetics</i>	2	3.14
<i>Phytopathology</i>	2	2.38
<i>Journal of Plant Physiology</i>	1	2.24
<i>Biochimica et Biophysica Acta-Gene Structure and Expression</i>	1	1.70
<i>Molecular Ecology Notes</i>	2	1.26
<i>Physiological and Molecular Plant Pathology</i>	1	1.11
Nombre et moyenne	29	4.00
		(médiane 3.85)

Annexe 1

Liste des publications de D. Tharreau

Articles parus dans des revues de rang A :

- Domingo C, Andrés F, Tharreau D, Iglesias DJ, Talón M. Constitutive expression of *OsGH3.1* reduces auxin content and enhances resistance to a fungal pathogen in rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions* in press.
- Faivre-Rampant O, Thomas J, Allègre M, Morel J-B, Tharreau D, Nottéghem J-L, Lebrun M-H, Schaffrath U, Piffanelli P. Characterisation of the model system rice-*Magnaporthe* for the study of non-host resistance in cereals. *New Phytologist* in press.
- Lambou K, Malagnac F, Barbisan C, Tharreau D, Lebrun M-H, Silar P. 2008. The crucial role during ascospore germination of the PlsI tetraspanin in *Podospora anserina* provides an example of the convergent evolution of morphogenetic processes in fungal plant pathogens and saprobes. *Eukaryotic Cell* 7:1809-1818.
- Vergne E, Ballini E, Droc G, Tharreau D, Nottéghem J-L, Morel J-B. 2008. ARCHIPELAGO: a dedicated resource for exploiting past, present and future genomic data on disease resistance regulation in rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21:869-878.
- Ballini E, Morel J-B, Droc G, Price A, Courtois B, Nottéghem J-L, Tharreau D. 2008. A genome-wide meta-analysis of rice blast resistance genes and QTLs provides new insights into partial and complete resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21:859-868.
- Lambou K, Tharreau D, Kohler A, Sirven A, Marguerettaz M, Barbisan C, Sexton AC, Kellner EM, Martin F, Howlett BJ, Orbach MJ, Lebrun MH. 2008. Fungi have three tetraspanin families with distinct functions. *BMC Genomics* 9:63.
- Ribot C, Hirsch J, Balzergue S, Tharreau D, Nottéghem J-L, Lebrun M-H, Morel J-B. Susceptibility of rice to the blast fungus, *Magnaporthe grisea*. *Journal of Plant Physiology* 165:114-124.
- Dutech C, Enjalbert J, Fournier E, Delmotte F, Barrès B, Carlier J, Tharreau D, Giraud T. 2007. Challenges of microsatellite isolation in fungi. *Fungal Genetics and Biology* 44:933-949.
- Adreit H, Santoso, Andriantsimalona D, Utami DW, Nottéghem JL, Lebrun MH, Tharreau D. 2007. Microsatellite markers for population studies of the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*. *Molecular Ecology Notes* 7:667-670.
- Ballini E, Berruyer R, Morel JB, Lebrun MH, Nottéghem JL, Tharreau D. 2007. Modern elite rice varieties of the Green Revolution have retained a large introgression from wild rice around the *Pi33* rice blast resistance locus. *New Phytologist* 175:340-350.
- Vergne E, Ballini E, Marques S, Sidi Mammar B, Droc G, Gaillard S, Bourot S, DeRose R, Tharreau D, Nottéghem JL, Lebrun MH, Morel JB. 2007. Early and specific gene expression triggered by rice resistance gene *Pi33* in response to infection by *ACE1* avirulent blast fungus. *New Phytologist* 174:159-171.
- Fudal I, Böhnert HU, Tharreau D, Lebrun MH. 2005. Transposition of MINE, a composite retrotransposon, in the avirulence gene *ACE1* of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Fungal Genetics and Biology* 42:761-772.
- Couch BC, Fudal I, Lebrun MH, Tharreau D, Valent B, van Kim P, Nottéghem JL, Kohn LM. 2005. Origins of host-specific populations of the blast pathogen, *Magnaporthe oryzae*, in crop domestication with subsequent expansion of pandemic clones on rice and weeds of rice. *Genetics* 170(2):613-630.

- Pujade-Renaud V, Sanier C, Cambillau L, Arokiaraj P, Jones H, Ruengsri N, Tharreau D, Chrestin H, Montoro P, Narangajavana J. 2005. Molecular characterisation of new members of the *Hevea brasiliensis* hevein multigene family and analysis of their promoter region in rice. *Biochimica et Biophysica Acta-Gene Structure and Expression* 1727:151– 161.
- Böhnert HU, Fudal I, Dioh W, Tharreau D, Nottéghem JL, Lebrun MH. 2004. A putative Polyketide Synthase/Peptide Synthetase from *Magnaporthe grisea* signals pathogen attack to resistant rice. *The Plant Cell* 16:2499-2513.
- Coca M, Bortolotti C, Rufat M, Peña G, Eritja R, Tharreau D, Martínez del Pozo A, Messeguer J, San Segundo B. 2004. Transgenic rice plants expressing the antifungal AFP protein from *Aspergillus giganteus* show enhanced resistance to the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Plant Molecular Biology* 54:245-259.
- Talukder ZI, Tharreau D, Price AH. 2004. Quantitative trait loci analysis suggests that partial resistance to rice blast is mostly determined by race-specific interactions. *New Phytologist* 162:197–209.
- Kaye C, Milazzo J, Rozenfeld S, Lebrun MH, and Tharreau D. 2003. The Development of Simple Sequence Repeat (SSR) Markers for *Magnaporthe grisea* and Their Integration into an Established Genetic Linkage Map. *Fungal Genetics and Biology* 40(3):207-214.
- Berruyer R., Adreit H., Milazzo J., Gaillard S., Berger A., Dioh W., Lebrun M.-H., Tharreau D. 2003. Identification and fine mapping of *Pi33*, the rice resistance gene corresponding to the *Magnaporthe grisea* avirulence gene *ACE1*. *Theoretical and Applied Genetics* 107(6):1139-1147.
- Sallaud C, Lorieux M, Roumen E, Tharreau D, Berruyer R, Svestasrani P, Garsmeur O, Ghesquiere A and Nottéghem J-L. 2003. Identification of five new blast resistance genes in the highly blast-resistant rice variety IR64 using a QTL mapping strategy. *Theoretical and Applied Genetics* 106: 794-803.
- Guideroni, E, Cordero, M.J., Vignols, F., Garcia-Garrido, J.M., Lescot, M., Tharreau, D, Meynard, D., Ferrière, N., Nottéghem, J.L., Delseny M. 2002. Inducibility by pathogen attack and developmental regulation of the rice *Ltp1* gene. *Plant Molecular Biology* 49:679-695.
- Clergeot, P.H., Gourgues, M. Cots, J., Laurans, F., Latorse, M.P., Pépin, R., Tharreau, D, Nottéghem, J.L., and Lebrun, M.H. 2001. *PLS1*, a gene encoding a tetraspanin-like protein, is required for penetration of rice leaf by the fungal pathogen *Magnaporthe grisea*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 98:6963-6968.
- Soubabère, O., Jorge, V., Nottéghem, J.L., Lebrun, M.H., and Tharreau, D. 2001. Sequence Characterized amplified region markers for the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*. *Molecular Ecology Notes* 1:19-21.
- Dioh, W., Tharreau, D, Nottéghem, J.L., Orbach, M. and Lebrun, M.H. 2000. Mapping of Avirulence Genes in the Rice Blast Fungus, *Magnaporthe grisea*, with RFLP and RAPD Markers. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13:217-227.
- Silué, D., Tharreau, D, Talbot, N.J., Clergeot, P-H., Nottéghem, J-L., Lebrun, M-H. 1998. Identification and characterization of *apf1*⁻, a non-pathogenic mutant of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* unable to differentiate appressoria. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 53:239-251.
- Dioh, W., Tharreau, D and Lebrun, M.H. 1997. RAPD-based screening of genomic libraries for positional cloning. *Nucleic Acids Research* 25:5130-5131.
- Tharreau, D, Nottéghem, J. L. and Lebrun, M.H. 1997. Mutations affecting peritheciium development and sporulation in *Magnaporthe grisea*. *Fungal Biology and Genetics* 21:206-213.

- Silué, D., Nottéghem, J. L. and Tharreau, D. 1992. Evidence of a gene-for-gene relationship in the *Oryza sativa-Magnaporthe grisea* pathosystem. *Phytopathology* 82(5): 577-580.
- Silué, D., Tharreau, D. and Nottéghem, J.L. 1992. Identification of *Magnaporthe grisea* avirulence genes to seven rice cultivars. *Phytopathology* 82(12): 1462-1467.
- Articles dans d'autres revues à comité de lecture (sans facteur d'impact connu) :
- Bouet A, Adreit H, Milazzo J., Tharreau D., Keli J.Z. 2005. Comportement des nouveaux riz africains face à la pyriculariose en Côte d'Ivoire : Cas du NERICA 1 (Bonfani) et du NERICA 2 (Keah). *Agronomie africaine* 17:29-35.
- El Guilli M, Ouassou A, Adreit H, Milazzo J, Nottéghem JL, Tharreau D. 2005. Caractérisation de la diversité génétique des isolats marocains de *Magnaporthe grisea* par des marqueurs RAPD et SCAR. *Al Awamia* 2(1) :105-116.
- Wang YL, Kaye C, Bordat A, Adreit H, Milazzo J, Zheng XB, Shen Y, Tharreau D. 2005. Construction of a linkage map and location of avirulence genes from the cross CH63 and TH16 of *Magnaporthe grisea*. *Chinese Journal of Rice Science* 19(2):160:166 (en chinois, résumé en anglais).
- Zhu XD, Shen Y, Adreit H, Frouin J, Tharreau D. 2004. Resistance evaluation of some Chinese leading rice maintainer, restorer lines and their hybrids to *Magnaporthe grisea*. *Rice Science* 11(3):101-105.
- Shen Y, Frouin J, He YQ, Kaye C, Xiao FH, Nottéghem JL, Liu EM, Tharreau D. 2004. The perfect stage and SSR analysis of *Magnaporthe grisea* in the Yanxi blast nursery, Hunan Province. *Chinese Journal of Rice Science* 18(3):262-269 (en chinois, résumé en anglais).
- Shen Y, Adreit H, Zhu XD, Milazzo J, Chen HQ, Tharreau D. 2004. Evaluation of resistance of some hybrid rices, conventional early *indica* and late *japonica* rice to *Magnaporthe grisea* in China. *Scientia Agricultura Sinica* 37(3):362-369 (en chinois, résumé en anglais).
- Shen Y, Kaye C, Frouin J, Deng YW, Tharreau D. 2004. Analysis of sexual reproduction and genetic diversity of *Magnaporthe grisea* with microsatellite (MS) markers. *Scientia Agricultura Sinica* 37(2):215-221 (en chinois, résumé en anglais).
- Shen Y, Adreit H, Zhu XD, Milazzo J, Chen HQ, Tharreau D. 2003. Resistance Evaluation of Some Hybrid Rice, Conventional Early *Indica* and Late *Japonica* Rice to *Magnaporthe grisea*. *Agricultural Sciences in China* 12(2):1351-1356.
- Shen Y, Milazzo J, Yuan XP, Adreit H, Wang YL, Nottéghem JL, Tharreau D. 2003. Mating type alleles, female fertility and genetic diversity of *Magnaporthe grisea* populations pathogenic to rice from some Asian countries. *Agricultural Sciences in China* 2(11):1221-1226.
- Shen Y, J.Milazzo, Deng YW, Adreit H, Wang YL, Nottéghem JL, Tharreau D. 2003. Analysis of genetic diversity of mating type and female fertility in isolates of *Magnaporthe grisea* in some Asian countries. *Scientia Agricultura Sinica* 36(11):1287-1292 (en chinois, résumé en anglais).
- Bouet A, Milazzo J, Adreit H, Nottéghem JL, Tharreau D. 2002. Mise en évidence de races et de lignées clonales dans la population de *Magnaporthe grisea* en Côte d'Ivoire. *Agronomie africaine* 14(1):51-69.
- Shen Ying, Nottéghem Jean-Loup, Milazzo Joëlle, Yuan Xiao-Ping, Adreit Henry, Zhao Xin-Hua, Wang Yan-Li, Tharreau Didier. 2002. Geographic distribution of mating type in *Magnaporthe grisea* and the relationship between fertile isolates in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 35(3):256~263 (en chinois, résumé en anglais).

- Shen Ying, Nottéghem Jean-Loup, Milazzo Joëlle, Yuan Xiao-Ping, Adreit Henry, Zhao Xin-Hua, Wang Yan-Li, Tharreau Didier. 2002. Geographic distribution of mating type in *Magnaporthe grisea* and the relationship between fertile isolates in China. *Agricultural Sciences in China*. 1(6):648-656.
- Shen, Y, Nottéghem, J.L., Yuan XP, Zhao, X.H, Tharreau, D. 2001. Geographic distribution of mating type and female fertile isolates in *Magnaporthe grisea* of China. *Chinese Rice Research Newsletter* 9:10-11.
- El Guilli, M., Jrifi, A., Milazzo, J., Adreit, H., Ismaili, M., Farih, A., Lyamani, A., Nottéghem, J.L., Tharreau, D. (2000) Evaluation de la résistance à la pyriculariose des variétés de riz utilisées au Maroc. *Al Awamia* 102:83-91.

Articles parus dans d'autres revues :

- Berruyer R, Adreit H, Milazzo J, Dioh W, Böhnert HU, Fudal I, Zhu L, Price A, Nottéghem JL, Lebrun MH, Tharreau D. 2002. Characterization of *Pi33*, a rice resistance gene interacting with the *Magnaporthe grisea* avirulence gene ACE1. *International Rice Research Newsletter* 27(2):11-12.
- Dioh, W., Lebrun, M.H., Tharreau, D., Gomez, R., Roumen, E. Nottéghem, J.L., Orbach, M. 1997. Mapping avirulence genes in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Cahiers Options Méditerranéennes* 15:113-118.
- Silué, D., Tharreau, D., Milazzo, J., Adreit, H. and Nottéghem, J.L. 1994. More avirulence genes. *Rice Biotechnology Quarterly* 18:9-10.
- Silué, D., Tharreau, D., Milazzo, J., Adreit, H. and Nottéghem, J.L. 1993. Avirulence genes identified. *Rice Biotechnology Quarterly* 13:22-23.

Ouvrages :

- D. Tharreau, MH Lebrun, NJ Talbot, and J.L. Nottéghem. 2000. *Advances in Rice Blast Research*. Proceedings of the 2nd International Rice Blast Conference. 4-7 August 1998, Montpellier, France. D. Tharreau, M.H. Lebrun, N.J. Talbot, J.L. Nottéghem (ed). Kluwer Academic Press. 364 pp.

Chapitres d'ouvrages :

- Tharreau D, Fudal I, Andriantsimialona D, Santoso, Utami D, Fournier E, Lebrun M-H, Nottéghem J-L. World population structure and migration of the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*. In Proceedings of the 4th International Rice Blast Conference, Changsha, Chine, Octobre 9-14 2007. In press.
- Guiderdoni E, Courtois B, Huang N, McCouch SR, Ghesquière A, Lorieux M, Filloux D, Albar L, Ahmadi N, Tharreau D, Nottéghem JL. 2006. The IR64-Azucena mapping population. In France and the CGIAR: delivering scientific results for agricultural development. CGIAR, Washington, USA: 34-38.
- Shen Y, Milazzo J, Yuan XP, Adreit H, Wang YL, Nottéghem JL, Tharreau D. 2004. Mating type alleles, female fertility and genetic diversity of *Magnaporthe grisea* populations pathogenic to rice in five Asian countries. In Rice blast: interaction with rice and control. Proceedings of the 3rd International Rice Blast Conference. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Pays Bas : 271-279.
- Shen Y, Adreit H, Zhu XD, Milazzo J, Chen HQ, Tharreau D. 2004. Resistance of some Chinese hybrid rice, conventional early *indica* and late *japonica* rice to *Magnaporthe grisea*. In Rice blast: interaction with rice and control. Proceedings of the 3rd International Rice Blast Conference. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Pays Bas : 241-250.

- Correa-Victoria FJ, Tharreau D, Martinez C, Vales M, Escobar F, Prado G, Aricapa G. 2004. Studies of the rice blast pathogen, resistance genes, and implication for breeding for durable resistance in Colombia. *In Rice blast: interaction with rice and control. Proceedings of the 3rd International Rice Blast Conference*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Pays Bas : 215-227.
- Tharreau D, Kaye C, Fudal I, Böhnert H, Lebrun MH, Wang Y, Zhu X, Shen Y, Ling Z, Xu J, Zhu L, Price A. 2004. RESIDIV: exploring the genetic diversity of rice-blast host-pathogen interactions in China: a tool to improve breeding for resistance to blast disease. *In Rice blast: interaction with rice and control. Proceedings of the 3rd International Rice Blast Conference*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Pays Bas : 185-190.
- Carlier, J., Tharreau D. 2003. Etude de la structure des populations de *Mycosphaerella fijiensis* (maladie des raies noires du bananier) et de *Magnaporthe grisea* (pyriculariose du riz) en relation avec la gestion des résistances à ces maladies. *In Phytopathologie*. P. Lepoivre (ed). De Boeck, Bruxelles, Belgique : 138-141.
- Luce, C., Noyer, J.L., Tharreau, D., Ahmadi, N. and Feyt, H. 2001. The use of microsatellite markers to examine the diversity of the genetic resources of rice (*Oryza sativa*) adapted to European conditions. *Acta Hort.* (ISHS) 546:221-235.
- Tharreau D, Roumen E., Lorieux M., Price A., Dioh W., Ghesquiere A., Lebrun, M.H., and Nottéghem, J.L. 2000. New tools for resistance gene characterisation in rice. *In Advances in Rice Blast Research. Proceedings of the 2nd International Rice Blast Conference*. 4-7 August 1998, Montpellier, France. D. Tharreau, M.H. Lebrun, N.J. Talbot, J.L. Nottéghem (ed). Kluwer Academic Press : 54-62.
- Soubabère, O., Dioh, W., Lebrun, M.H., Nottéghem, J.L., and Tharreau D. 2000. Comparative continental variation of the rice blast fungus using Sequence Characterized Amplified Region markers. *In Advances in Rice Blast Research. Proceedings of the 2nd International Rice Blast Conference*. 4-7 August 1998, Montpellier, France. D. Tharreau, M.H. Lebrun, N.J. Talbot, J.L. Nottéghem (ed). Kluwer Academic Press : 209-213.
- Brygoo, Y., Caffier, V., Carlier, J., Fabre, J.V., Fernandez, D., Giraud, T., Mourichon, X., Neema, C., Nottéghem, J.L., Pope, C., Tharreau D, Lebrun, M.H. 1998. Reproduction and population structure in phytopathogenic fungi. *In Molecular variability of fungal pathogens*. P.D. Bridge, Y. Couteaudier, J.M. Clarkson (ed). CAB International, Wallingford, Grande Bretagne : 133-148.
- Vales M., Razafindrakoto J., Dechanet R., Tharreau D, 1997. Deux nouvelles variétés productives de riz irrigué d'altitude malgache. In : *Actes du séminaire riziculture d'altitude*. Séminaire Riziculture d'Altitude, 1996/03/29-1996/04/05, Antananarivo, Madagascar. Poisson C., Rakotoarisoa J. (ed.), *Colloques CIRAD-CA, FOFIFA, UCL, Montpellier, France* : 49-53.
- Jacquot, M. Clément, G. Ghesquière, A., Glaszmann, J.C., Guiderdoni, E., Tharreau D. 1997. Les riz. *In L'amélioration des plantes tropicales*. A. Charrier, M. Jacquot, S. Hamon, D. Nicolas (ed). CIRAD/ORSTOM, Montpellier, France : 533-564.
- Dioh, W., Tharreau D, Gomez, R., Roumen, E., Orbach, M., Nottéghem, J.L., Lebrun, M.H. (1996). Mapping avirulence genes in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *In Rice Genetics III*. G.S. Khush (ed). IRRI, Manille, Philippines : 916-920.
- Nottéghem, J. L., Tharreau D, Silué, D., Roumen, E. 1994. Present knowledge of rice resistance genetics and strategies for *Magnaporthe grisea* pathogenicity and avirulence gene analysis. *In Rice Blast Disease*. R. Zeigler, S. Leong, P. Teng (ed). CAB International/IRRI, Wallingford, Grande Bretagne : 155-165.

Annexe 2

Curriculum vitae

1 - Informations Agent :

Identité : THARREAU Didier
Département : Bios
Unité : UMR BGPI
Adresse professionnelle : UMR BGPI
TA A54/K
Campus International de Baillarguet
34398 Montpellier Cedex 5 France
Téléphone : 04 99 62 48 39
Fax : 04 99 62 48 48
Adresse électronique : tharreau@cirad.fr

Profession : Phytopathologiste

Fonction : Chercheur

Situation maritale : Marié

Nombre d' enfants : 2

2 - Compétences :

Mots-clés du CV : Génétique, Résistance, Champignons, Populations

Descriptif : Phytopathologie du riz. Génétique de l'avirulence et du pouvoir pathogène de *Magnaporthe oryzae*. Construction de cartes génétiques de *M. oryzae*. Etude des populations de champignons phytopathogènes. Génétique de la résistance du riz à la pyriculariose. Cartographie de gènes et QTL de résistance à la pyriculariose du riz.

3 - Région(s) d' expérience :

Madagascar, Bassin Méditerranéen, Asie (Chine, Thaïlande), Amérique du Sud (Colombie)

4 - Formation :

Intitulé : Doctorat en Sciences de l' Université Paris XI

Ecole ou université : Université Paris XI

Ville : Orsay

Pays : France

Année d' obtention : 1994

Intitulé : Diplôme d' Etudes Approfondies de Phytopathologie

Ecole ou université : Université Paris XI

Ville : Orsay

Pays : France

Année d' obtention : 1990

Intitulé : Maîtrise de Biophysiology Appliquée aux Productions Végétales

Ecole ou université : Université d' Angers

Ville : Angers
Pays : France
Année d'obtention : 1989

Intitulé : Diplôme d'Etudes Universitaires Générales. Mention Sciences de la Nature et de la Vie

Ecole ou université : Université d'Angers

Ville : Angers
Pays : France
Année d'obtention : 1987

Intitulé : Baccalauréat Série C (Mathématiques et Physique)

Ecole ou université : Lycée Joachim du Bellay

Ville : Angers
Pays : France
Année d'obtention : 1985

5 - Compétences linguistiques :

Anglais : lu ' 3, écrit ' 3, parlé ' 3
Espagnol : lu ' 3, écrit ' 2, parlé ' 2
Français : lu ' 4, écrit ' 4, parlé ' 4

6 - Expérience professionnelle :

Organisme employeur : CIRAD

Période : Depuis 1996
Ville : Montpellier
Pays : France

Fonction : Phytopathologiste

Description de l'activité : Caractérisation des populations de *Magnaporthe oryzae* avec des marqueurs moléculaires et des tests de pouvoir pathogène. Génétique du pouvoir pathogène de *Magnaporthe oryzae*. Cartographie de gènes et QTL de résistance à la pyriculariose chez le riz.

Organisme employeur : CIRAD

Période : 1994-1995
Ville : Antsirabe
Pays : Madagascar

Fonction : Phytopathologiste

Description de l'activité : Sélection pour la résistance du riz à la pyriculariose.

Organisme employeur : Académie de Montpellier (Bourse Ministère de la Recherche, de l'Enseignement et de la Technologie)

Période : 1990-1994
Ville : Montpellier
Pays : France

Fonction : Phytopathologiste

Description de l'activité : Génétique de l'avirulence de *Magnaporthe oryzae* et de la résistance de son hôte, le riz.

